UNTERSUCHUNGEN

ÜBER DAS

FIBRINFERMENT

VON

C. A. PEKELHARING.

Verhandelingen der Koninklijke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam

(TWEEDE SECTIE.)

DEEL I. No. 3.

AMSTERDAM,
JOHANNES MÜLLER.
1892.

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS FIBRINFERMENT

VON

C. A. PEKELHARING.

In einer früheren Arbeit [1]) habe ich nachzuweisen versucht, dass das Fibrinferment als eine organische Kalkverbindung betrachtet wurden muss, welche im Stande ist, an Fibrinogen zur Fibrinbildung Kalk zu übertragen. Der organische Bestandtheil dieser Verbindung wurde im Blutplasma verschiedener Thierarten gefunden, nachdem die Gerinnung mittelst Magnesiumsulfat oder Kaliumoxalat hintangehalten war, und liess sich daraus durch Dialyse und durch Sättigung mit Chlornatrium theilweise, durch Sättigung mit Magnesiumsulfat vollkommen ausscheiden. Die eigentliche Natur dieser Substanz — welche als das Zymogen des Fibrinfermentes zu betrachten war — blieb dabei aber im Dunkeln. Das Zymogen war in einem grossen Niederschlag von Paraglobulin versteckt, und es musste also erst ein Mittel gefunden werden es davon zu trennen.

Nach einigen vergeblichen Versuchen stellte es sich heraus, dass die gewünschte Trennung mittelst Essigsäure bewirkt werden konnte.

Wenn Oxalatplasma, woraus, in der früher beschriebenen Weise, das Fibrinogen mittelst Na Cl entfernt war, durch Dialyse salzarm gemacht wurde, die Dialyse aber nicht so lange fortgesetzt wurde, dass schon ein Niederschlag von Globulin entstand, so rief vorsichtiges Hinzufügen verdünnter Essigsäure, bis zur schwach, aber deutlich sauren Reaction, in der Flüssigkeit eine Fällung hervor, welche in Ueberschuss von Essigsäure löslich war. Diese Fällung, mit Hülfe der Centrifuge von der Flüssigkeit getrennt, und mit Wasser gewaschen, zeigte sich als eine Substanz welche, ebenso wie Paraglobulin,

[1]) Internat. Beiträge zur wissensch. Medicin, Festschrift Rudolf Virchow gewidmet. Bd. I, S. 433. 1891.

in neutraler verdünnter Kochsalzlösung, und in sehr verdünntem Alkali leicht löslich ist, sich aber von Paraglobulin unterscheidet durch ihre Unlöslichkeit in verdünnter Essigsaure, und welche in neutraler Lösung mit Hülfe eines Kalksalzes reines Fibrinogen zur Gerinnung bringt. Sie löst sich zu einer wasserklaren Flüssigkeit in 0.1 pCt. HCl. Wird diese Lösung mit ein weinig Pepsin bei Körpertemperatur digerirt, so wird sie bald opalescirend, und setzt sich nach einigen Stunden ein Niederschlag aus der Flüssigkeit ab. Die Flüssigkeit giebt dann starke Biuretreaction; der Niederschlag ist unlöslich in Salzsäure und Essigsäure, leichtlöslich in Alkali, und giebt, mit Salpeter und Natriumcarbonat geglüht, eine Asche welche sich leicht löst in Wasser, und mit molybdensaurem Ammon, und mit Magnesiamixtur deutliche Phosphorsäure-reaction giebt. Die von Essigsäure aus dem von Fibrinogen befreiten Plasma gefällte Substanz ist hierdurch als ein Nucleoalbumin characterisirt.

Man kann dieses Nucleoalbumin auch bereiten, indem man Oxalat- oder Magnesiumsulfatplasma erst mittelst Na Cl von Fibrinogen befreit und es dann mit $MgSO_4$ sättigt, oder durch Dialyse sehr salzarm macht. In beiden Fällen entsteht, wir ich früher beschrieben habe, ein Niederschlag, der ausser Paraglobulin, auch das Zymogen — die Substanz welche, indem sie sich mit Kalk verbindet, zum Fibrinferment wird — enthält. Wird dieser Niederschlag (falls die Fällung durch Sättigung mit $MgSO_4$ hervorgerufen ist, muss sie erst durch Dialyse vom anhängenden Salz befreit worden) in Wasser vertheilt, und dann mit verdünnter Essigsäure behandelt, so löst sich das Paraglobulin, das Nucleoalbumin aber nicht, wenn wenigstens nicht zu viel Essigsäure zugesetzt wird.

Das in dieser Weise erhaltene Nucleoalbumin hat, auch in Bezug auf die fibrinoplastische Wirkung bei Anwesenheit von Kalksalzen, genau dieselben Eigenschaften wie dasjenige welches in der erst beschriebenen Weise bereitet worden ist.

Eine einfachere Methode ist folgende: Oxalatplasma wird, in der Absicht es salzarm zu machen, mit zwei Volum Wasser verdünnt, und mit soviel verdünnter Essigsäure behandelt, dass die Reaction sauer, und die beim Neutralisiren des Plasma entstandene Fällung zu einem grossen Theil wieder gelöst ist. Die Flüssigkeit wird nun centrifugirt, und dabei setzt sich ein Niederschlag ab, der fest genug am Bodem des Gefässes haftet um das Abgiessen der klaren obenstehenden Flüssigkeit zu ermöglichen. Die Fällung besteht hauptsächlich aus Nucleoalbumin, ist aber mit Fibrinogen und Paraglobulin verunreinigt. Zur Reinigung wird sie in möglichst wenig Kalilauge oder Ammon gelöst, mit viel Wasser versetzt, wieder

mittelst Essigsäure gefällt, in der Centrifuge von der Flüssigkeit getrennt, dann nochmals in derselben Weise behandelt, und schliesslich mit Wasser ausgewaschen. Wenn diese Bereitung schnell und bei niedriger Temperatur stattfindet, und wenn Sorge getragen wird dass bei der Lösung des Niederschlages möglichst wenig Alkali verwendet wird, dann erhält man auf diese Weise ein Nucleoalbumin welches, mit Kalk verbunden, alle Eigenschaften eines kräftig wirksamen Fibrinferments besitzt.

Ich habe kein Mittel gefunden mich mit Sicherheit davon zu überzeugen, dass das so bereitete Nucleoalbumin völlig frei ist von Paraglobulin, wenngleich wohl angenommen werden darf dass, nach dreimaligen Behandlung mit Essigsäure bis nicht zu schwach sauren Reaction nicht mehr wie Spuren von Paraglobulin im Niederschlage vorhanden sein können. Wohl aber kann mit Sicherheit nachgewiesen werden dass das Fibrinogen, welches bei der ersten Fällung aus dem Plasma mit niedergeschlagen wird, durch die weitere Reinigung ganz entfernt wird. Während doch der erste Niederschlag aus dem Plasma, in Kochsalz gelöst, bei Anwesenheit von Kalksalzen, immer mehr oder weniger Fibrin liefert, zeigt das dreimal gefällte Nucleoalbumin keine Spur von Gerinnung wenn nicht, ausser Kalk, auch noch Fibrinogen zu der Lösung zugesetzt wird.

Ausser durch die Spaltung in Nuclein und Eiweiss bei Behandlung mit Magensaft, unterscheidet sich das Nucleoalbumin des Blutplasma sowohl von Paraglobulin als von Fibrinogen durch die Gerinnungstemperatur, welche bei $\pm$ 65^0 C. gelegen ist. Bei dieser, oder einer etwas höheren Temperatur, verliert auch das Nucleoalbumin die Fähigkeit mit Kalk Fibrin zu bilden, während schon durch Erhitzen bis auf 50^0 C. diese Fähigkeit geschwächt wird.

Folgender Versuch möge als Beispiel dienen:

Von einer Lösung von Nucleoalbumin aus Oxalatplasma vom Rinde in Na Cl werden in 5 Probirröhrchen je 3 CC. gebracht. Ein Röhrchen A wird bei Zimmertemperatur gehalten, die vier anderen werden in einem grossen Wasserbade, das langsam bis auf 65^0 C. erwärmt wird, aufgehängt.

a	wird	aus	dem	Wasserbad	genommen	bei	50^0 C.,	ist	klar	geblieben
b	"	"	"	"	"	"	55^0 C.,	"	"	"
c	"	"	"	"	"	"	60^0 C.,	"	"	"
d	"	"	"	"	"	"	65^0 C.,	ist	trübe	geworden.

Nachdem die erhitzten Röhrchen abgekühlt sind, wird zu jeder der fünf hinzugefügt 5 CC. einer reinen Fibrinogenlösung mit 2

Tropfen $CaCl_2$ 1 pCt. und werden die Röhrchen in das Wasserbad bei 37° C. gebracht.

A	ist nach	10	Minuten	vollständig	fest	geworden
a	„ „	15	„	„	„	„
b	„ „	21	„	„	„	„
c	„ „	23	„	„	„	„

d zeigt nach einer Stunde ein äusserst zartes, wolkiges Gerinnsel, das auch bei längerem Stehen nicht zunimmt.

Der Salzgehalt der Flüssigkeit hat auch hier, ebenso wir bei anderen Eiweissstoffen, Einfluss auf die Gerinnungstemperatur.

Von einer völlig klaren Nucleoalbuminlösung (aus Pferdeblutplasma) in Na Cl 0.7 pCt. werden in 3 Röhrchen, *a*, *b* und *c* je 3 CC. gebracht. Bei *b* werden 5, bei *c* 10 Tropfen einer gesättigten Kochsalzlösung hinzugefügt. Dann werden die Röhrchen in einem grossen gläsernen Wasserbad aufgehängt das langsam erwärmt wird.

a	wird opalescirend	bei	57° C.,	flockig bei	69° C.
b	„ „	„	61° C.,	„ „	75° C.
c	„ „	„	63° C.,	„ „	77° C.

Für die Bildung von Fibrinferment aus dem Nucleoalbumin ist es genügend die Substanz in Kochsalzlösung geringer Concentration aufzunehmen und ein wenig $CaCl_2$ oder $CaSO_4$ hinzuzufügen. Sehr gut kann derselbe Zweck auch erreicht werden, indem der Nucleoalbuminniederschlag in Ueberschuss von Kalkwasser gelöst wird, das überschüssige Calciumhydroxyd durch Durchführen von CO_2 entfernt, und die Kohlensäure wieder von einem Strom atmosphärischer Luft verjagt wird. Dabei ist es nöthig, vor der Durchleitung von CO_2, etwas Kochsalz der Lösung hinzuzufügen, damit die Nucleoalbumin-Kalkverbindung auch bei neutraler Reaction gelöst bleibe. Dann wird auch das gebildete Calciumcarbonat in Lösung gehalten: die Flüssigkeit wird beim Durchführen von CO_2 opalescirend, aber nicht trübe. Ist das Nucleoalbumin nicht genügend gereinigt, sodass es noch Fibrinogen enthält, so bildet sich nach dem Durchführen atmosphärischer Luft, ein Coagulum, das alle in der Flüssigkeit schwebenden Partikel einsschliesst, und sich leicht als Ganzes aus der Flüssigkeit herausnehmen lässt.

Eine solche Lösung zeigt nun alle Eigenschaften einer kräftig wirksamen Fibrinfermentlösung, auch hierin dass sie zur Fibrinbil-

dung aus Fibrinogen im Stande ist bei Anwesenheit von freiem Kalium-oder Ammoniumoxalat [1]).

Umgekehrt lässt sich auch nachweisen, dass Fibrinferment, nach der Methode von SCHMIDT, oder nach derjenigen von HAMMARSTEN aus Blutserum bereitet, von Pepsinchlorwasserstoffsäure, unter Abspaltung von Nuclein, zersetzt wird.

Aus dem Mitgetheilten glaube ich folgern zu dürfen, dass in dem Nucleoalbumin des Blutplasma's thatsächlich das „Zymogen" gefunden ist, die Substanz welche, indem sie sich mit Kalk verbindet, zum Fibrinferment wird.

Dieser Folgerung würde man aber die Annahme entgegenstellen können, die fermentbildende Substanz sei nicht das Nucleoalbumin selbst, sondern sie sei, als Verunreinigung, damit gemischt. Dann wäre man freilich auch genöthigt anzunehmen, dass, umgekehrt, das aus Blutserum bereitete Ferment, gleichwohl ob es nach den ganz verschiedenen Methoden von SCHMIDT oder von HAMMARSTEN bereitet ist, immer mit Nucleoalbumin verunreinigt sei. Ausserdem spricht gegen diese Annahme die Thatsache dass das Nucleoalbumin, falls es wenigstens schnell bereitet, und möglichst wenig mit Alkali in Berührung gelassen ist, kräftiger wirksam ist, je besser es von den anderen Bestandtheilen des Blutes getrennt ist. So wurde z. B. eine reine Fibrinogenlösung von einmal mit Essigsäure gefälltem und dann mit Kalkwasser, CO_2 und Luft behandeltem Nucleoalbumin aus Oxalatplasma des Rindes, in 3 Stunden zur Gerinnung gebracht, während dasselbe Nucleoalbumin, in Kali gelöst und noch einmal mit Essigsäure gefällt, nach Behandlung mit Kalkwasser, CO_2 und atmosphärischer Luft, dieselbe Fibrinogenlösung in 20 Minuten vollkommen gerinnen machte.

Diesen und ähnlichen Beobachtungen kann aber keine genügende Beweiskraft zugesprochen werden, erstens weil man nicht die Sicherheit hat das bei den unter sich zu vergleichenden Versuchen immer die gleiche Menge der wirksamen Substanz gebraucht wird, und zweitens weil das Resultat nicht constant ist. Wenn die Bereitung langsam stattfindet, und das Nucleoalbumin wiederholte Male gelöst und wieder mit Essigsäure gefällt, und wiederholt mit Wasser ausgewaschen wird, dann sieht man nicht selten dass es bei der Reinigung allmählich weniger wirksam wird — was, wie später näher ausgeführt werden soll, der leichten Zersetzlichkeit des Nucleoalbumins zuzuschreiben ist.

---

[1]) Cf. Internat. Beitr. z. Wissensch. Medicin, I, S. 445.

Es giebt aber einen besseren Grund gegen die Annahme, das Nucleoalbumin verschulde Beimischungen die Fähigkeit mit Kalk Fibrinferment zu bilden.

Diese Annahme gründet sich nur auf die Erfahrung dass Enzyme oft durch voluminöse Niederschläge aus ihren Lösungen mitgefällt werden. Darauf beruht denn auch, in Bezug auf das Fibrinferment, die von HAMMARSTEN angegebene Bereitungsweise, und der Mutterstoff dieses Ferments wird auch, wie ich früher nachwies, vom Fibrinogen mitgefällt, wenn dieses mittelst Na Cl aus Plasma ausgeschieden wird. So könnte man meinen, vom Nucleoalbumin würde, bei der Behandlung des verdünnten Plasma's mit Essigsäure, eine andere Substanz, welche dann das Zymogen wäre, mechanisch mitgerissen, Dann müsste also die Flüssigkeit desto vollkommener vom Zymogen befreit werden, je grösser der sich daraus absetzende Niederschlag ist.

Wiederholt wurde nun folgender Versuch angestellt.

Mit zwei Volum Wasser verdünntes Oxalatplasma wurde in zwei gleiche Hälften vertheilt. Die eine Hälfte wurde mit Essigsäure genau neutralisirt, die andere, unter Vermeiding eines zu grossen Ueberschusses, sauer gemacht. Darauf wurden beide Flüssigkeiten centrifugirt. Jedesmal war in der neutralisirten Flüssigkeit der Bodensatz viel — zwei bis dreimal — grösser als in der angesäuerten. Falls das Zymogen nur mechanisch mitgefällt wurde, so müsste also die neutralisirte Flüssigkeit besser davon befreit sein als die angesäuerte. War aber das Zymogen das Nucleoalbumin selbst, so müsste es in der neutralisirten Flüssigkeit, woraus hauptsächlich Fibrinogen und Paraglobulin gefällt war, in grösserer Menge nachzuweisen sein als in der angesäuerten. Es stellte sich heraus das jedesmal Letzteres der Fall war. Beide klare, vom Bodensatz abgegossenen Flüssigkeiten wurden mit Kalkwasser alkalisch gemacht (wobei Sorge getragen wurde, dass beide gleich stark verdünnt wurden) darauf, erst mit CO_2 und dann mit atmosphärischer Luft behandelt, und schliesslich auf Körpertemperatur gebracht. Ohne Ausnahme gerann nun das neutralisirte Plasma zu einer vollkommenen Gallerte, während sich in der angesäuerten Flüssigkeit entweder gar kein oder nur ein sehr geringfügiges Gerinnsel bildete. Wurde dem angesäuerten, jetzt wieder kalkhaltigen Plasma ein wenig des aus demselben gefällten Nucleoalbumins hinzugefügt, so gerann es in kurzer Zeit vollständig.

Offenbar ist es also das Nucleoalbumin selbst, das, durch neutralisiren nur zu einem kleinen Theil, durch Ansäuern aber völlig oder nahezu völlig aus dem verdünnten Plasma gefällt, mit Kalk Fibrinferment bildet, und nicht ein anderer mechanisch mitgefällter Stoff,

Wie gesagt, wird dieses Nucleoalbumin von verdünnten Salzlösungen gelöst. Die Löslichkeit ist, zumal in Salzlösungen von 0.5 bis 0.7 pCt., viel grösser bei Körpertemperatur als bei 0° C. Auf diese Eigenschaft stützt sich eine andere Methode zur Reinigung des Nucleoalbumins. Der mittelst Essigsäure aus verdünntem Plasma erhaltene Niederschlag wird bei 37° C. mit Na Cl 0.5—0.7 pCt. behandelt. Enthält der Niederschlag noch Fibrinogen, so wird das nur zu einem kleinen Theil gelöst. Die Lösung wird filtrirt, und das hauptsächlich mit etwas Paraglobulin verunreinigtes Nucleoalbumin enthaltende Filtrat in den Eisschrank gebracht. Die anfangs klare Lösung wird bald trübe, und nach einigen Stunden hat sich ein Bodensatz abgesetzt, der grösstentheils an der Wand des Glases haftet, sodass die Flüssigkeit ohne Verlust von viel Bedeutung abgegossen werden kann. Der Bodensatz besteht aus Nucleoalbumin; das Paraglobulin bleibt bij 0° gelöst, und wird mit der abgegossenen Flüssigkeit entfernt. Der Niederschlag löst sich bei Körpertemperatur völlig in physiologischer Kochsalzlösung, und zeigt alle oben beschriebenen Eigenschaften des Nucleoalbumins

Die durch Abkühlung aus der neutralen Salzlösung erhaltene Fällung ist nicht amorph, sondern besteht aus gruppenweise verklebten kuglichen und ellipsoidischen Körperchen. Sie ist, bei der mikroskopischen Untersuchung, nicht zu unterscheiden von dem Präcipitat das sich aus dem Blutplasma von mit Pepton vergifteten Hunden bei Abkühlung ausscheidet, und das von WOOLDRIDGE unter dem Namen A. Fibrinogen beschrieben worden ist. WOOLDRIDGE nennt aber die Körperchen, woraus sein „A. Fibrinogen" besteht, Scheibchen; und er hält es für nicht unwahrscheinlich dass zwischen diesen Körperchen und den Blutplättchen ein enger Zusammenhang besteht. Niemals habe ich aber, weder im Bodensatz von gekühltem Peptonplasma, noch in dem aus einer abgekühlten Nucleoalbuminlösung, die Körperchen als Scheibchen gesehen. Wenn im Präparat die Flüssigkeit in Bewegung gebracht wird, und die Körperchen durch das Gesichtsfeld treiben, zeigen sie nie eine schmale Seite, sondern bleibt der optische Querschnitt immer kreisförmig oder elliptisch. Dabei sind die Körperchen im selben Präparat oft sehr ungleich in Grösse, viel mehr als das je bei den Blutplättchen der Fall ist, und haben sie auch ein ziemlich viel stärkeres Lichtbrechungsvermögen wie die Blutplättchen. Was die äussere Form betrifft — die mich vielmehr an Saccharomyceskolonien erinnert als an Gruppen von Blutplättchen — muss ich mich ganz der Ansicht BIZZOZERO's [1])

[1]) Internat. Beiträge zur Wissensch. Medicin, Festschrift R. Virchow gewidmet, Bd. 1, S. 460.

anschliessen, dass darin kein Grund vorhanden ist um einen Zusammenhang zwischen WOOLDRIDGE's A. Fibrinogen und den Blutplättchen anzunehmen.

Das Nucleoalbumin kann auch unmittelbar in dieser Form aus Oxalat- und anderem Plasma erhalten werden, wenn das Plasma mit zwei Volum Wasser verdünnt, mit Essigsäure schwach sauer gemacht, und dann nur so lange centrifugirt wird dass der Niederschlag sich zum grössten Theil abgesetzt hat. Wird jetzt die opalescirende Flüssigkeit, aus welcher das Nucleoalbumin nur theilweise, das Paraglobulin und das Fibrinogen aber, insofern diese Stoffe gefällt sind, ganz entfernt ist, in den Eisschrank gebracht, so findet man nach einigen Stunden den Boden und theilweise auch die Wand des Gefässes mit einem Niederschlag besetzt, von welchem die Flüssigkeit ohne Verlust von Bedeutung abgegossen werden kann. Dieser Niederschlag besteht gänzlich aus den oben beschriebenen Körperchen, ist, bei Körpertemperatur, leicht löslich in indifferenter Kochsalzlösung, und stimmt in all seinen Eigenschaften mit dem auf andere Weisen bereiteten Nucleoalbumin überein.

Dieser Befund machte es sehr wahrscheinlich, dass auch der Bodensatz welcher sich in Peptonplasma bei Abkühlung bildet, nichts anderes sein würde als Nucleoalbumin, die Muttersubstanz also des Fibrinferments, und nicht, wie WOOLDRIDGE glaubte, eine Muttersubstanz des Fibrins.

Es stellte sich heraus dass dies wirklich der Fall war.

Peptonplasma, welches eine Nacht über im Eisschrank gestanden hatte, und aus welchem sich ein Bodensatz von „A. Fibrinogen" abgesetzt hatte, wurde bei 0° C. filtrirt. Darauf wurde das Filter bei 37° C. mit Na Cl 0.6 pCt. extrahirt. Ein Theil des klaren Extractes wurde mit einer Lösung von reinem Fibrinogen aus Rindsblut, und ein wenig $Ca\,Cl_2$ vermischt. Nach 10 Minuten war das Gemisch vollständig geronnen. Ein anderer Theil wurde mit dem gleichen Volum H Cl 0.2 pCt. vermischt; der völlig klaren Flüssigkeit wurde eine Lösung von Pepsin in H Cl 0.2 pCt. hinzugefügt. In der, während der Nacht bei 37° C. digerirten Mischung hatte sich am folgenden Morgen ein in Kali und in Ammon leicht löslicher Niederschlag gebildet. — Wurde die Lösung von „A. Fibrinogen" in Na Cl langsam im Wasserbade erwärmt, so trübte sie sich bei 56° C., in Folge Verunreinigung mit Fibrinogen, wie zu erwarten war, da durch blosses Filtriren der Bodensatz nicht vollkommen von den anderen Bestandtheilen des Plasma's getrennt sein konnte. Die Flüssigkeit wurde nun, zur völligen Entfernung des Fibrinogens, einige Minuten auf 60° C. erwärmt und dann filtrirt. Das klare

Filtrat fing jetzt an sich zu trüben bei 65° C., der Gerinnungstemperatur des Nucleoalbumins.

WOOLDRIDGE hat diese Substanz für einen Mutterstoff des Fibrins gehalten, u. A. weil von „A. Fibrinogen" befreites Peptonplasma die Fähigkeit bei Durchleiten von Kohlensäure und nach Verdünnung mit Wasser zu gerinnen verloren hat, diese Fähigkeit aber wieder bekommt sobald „A. Fibrinogen" aufs Neue hinzugesetzt wird. Daraus geht aber nur hervor dass diese Substanz auf die Gerinnung Einfluss hat, nicht dass sie selbst das eiweissartige Material für das Fibrin abgiebt.

In meiner vorigen Mittheilung habe ich nachzuweisen versucht dass bei der Einführung von Pepton in das Blut beim Hunde, die Albumose den Kalk bindet, sodass das Zymogen, das ist also das Nucleoalbumin, verhindert wird Fibrinferment zu bilden. Der Kalk bleibt dabei gelöst: klares Peptonplasma giebt mit Ammoniumoxalat einen Niederschlag von Calciumoxalat. Sowohl durch Durchleiten von CO_2 und Hinzufügen von Salzsäure oder Essigsäure bis zur Neutralisation, als durch Verdünnung mit Wasser, wird die Wirkung der Albumose geschwächt oder ganz aufgehoben, und das Nucleoalbumin in den Stand gesetzt den Kalk aufzunehmen, und auf das Fibrinogen zur Fibrinbildung zu übertragen. Das ist aber natürlicherweise nicht mehr möglich, wenn erst das Nucleoalbumin — das „A. Fibrinogen" — aus dem Plasma entfernt ist. Ganz in Uebereinstimmung hiermit fand ich, dass dem durch Abkühlung von „A. Fibrinogen" befreiten Peptonplasma die Fähigkeit beim Durchführen von CO_2 oder nach Verdünnung mit Wasser zu gerinnen vollkommen zurückgegeben wird durch Zusatz von aus Oxalatplasma des Rindes bereitetem Nucleoalbumin.

Ein anderer Grund von WOOLDRIDGE für seine Meinung, die mittelst Abkühlung aus Peptonplasma ausgeschiedene Substanz habe Recht auf den Namen Fibrinogen, ist dieser, dass dieser Stoff sich leicht in eine fibrinartige Substanz verwandelt. „Die Substanz", sagt er [1]), „welche sich bei der Abkühlung ausscheidet, kann mit Recht als Fibrinogen bezeichnet werden, da sie sich mit grosser Leichtigkeit in Fibrin umwandelt". Es ist leicht sich davon zu überzeugen dass W.'s A. Fibrinogen durch Filtriren oder durch Abhebern von Plasma getrennt, in Wasser oder in einer geringen Menge einer schwachen Kochsalzlösung aufbewahrt, bald weniger

[1]) Die Gerinnung des Blutes. Nach dem Tode des Verf. herausgeg. von M, VON FREY, Leipzig, 1891, S. 45.

löslich wird, und schliesslich in eine gallertartige, fibrinähnliche Masse übergeht. Daraus darf aber nicht gefolgert werden dass das „A. Fibrinogen" selbst Fibrin liefert. Denn diese Substanz wird durch Filtriren oder Abhebern nicht ganz von den anderen Bestandtheilen des Plasma's getrennt. Der in Wasser aufgenommene Bodensatz ist nichts Anderes als verdünntes Peptonplasma mit einem relativ grossen Gehalt an Nucleoalbumin, und man darf sich nicht wundern dass darin Gerinnung beobachtet wird, da ja das gewöhnliche Peptonplasma, das viel weniger Nucleoalbumin enthält, schon nach Verdünnung mit Wasser gerinnt. Ausserdem wird das Nucleoalbumin selbst bein Stehen in solcher Weise verändert, dass seine Löslichkeit in Salz geringer wird; dabei ist aber nicht die Rede von Fibrinbildung, sondern von Freiwerden von Nuclein und derartigen Stoffen. Beide Processe, Fibrinbildung aus Fibrinogen und Spaltung van Nucleoalbumin sind zu gleicher Zeit, aber nicht immer jeder in derselben Maasse, im Spiel bei den Veränderungen welche W.'s A. Fibrinogen beim Aufbewahren durchmacht, und so ist es auch zu begreifen dass WOOLDRIDGE spricht von einer „allmähligen Umwandlung des Niederschlags in einen fibrinartigen Körper, der *in manchen Fällen* von wirklichem Fibrin gar nicht zu unterscheiden ist" [1]).

Wie es kommt, dass Nucleoalbumin sich bei Abkühlung so viel leichter aus Peptonplasma als aus andersartigem Plasma ausscheidet, ist mir nicht klar geworden. Ebensowenig wie HALLIBURTON [2]) habe ich je aus andersartigem Plasma diesen eigenthümlichen Niederschlag von Kügelchen abgesetzt gefunden, wenn ich nicht das Plasma, wie oben beschrieben, erst angesäuert hatte. WRIGHT theilt aber mit [3]), dass er sich einen solchen Niederschlag ausnahmslos absetzen sah bei der Abkühlung von entkalkten Plasma. Vielleicht ist der Alkaligehalt hierbei im Spiel. Dass die Reaction nicht nothwendigerweise sauer zu sein braucht, beweist die Ausscheidung des Niederschlags bei der Abkühlung einer neutralen, Nucleoalbumin enthaltenden Kochsalzlösung. WOOLDRIDGE bemerkt auch, dass die Ausscheidung seines A. Fibrinogens durch Sättigen des gekühlten Peptonplasma's mit CO_2 befördert wird.

Von diesem Gedanken ausgehend habe ich untersucht, ob vielleicht der Alkaligehalt des Blutplasma's durch Peptoneinspritzung

---

1) l. c. S. 46.

2) Journ. of Physiol., Vol. IX, p. 277.

3) The Lancet, Febr. 27, 1892.

verringert wird. Dazu wurde, vor der Einspritzung des Peptons (einer 10 procentigen genau neutralisirten Lösung von GRÜBLER'S Pepton) in die Vena des Hundes, Blut in einer neutralen Lösung von Kaliumoxalat oder Fluornatrium aufgefangen, um den Alkaligehalt des Blutes vor und nach der Peptonwirkung bestimmen zu können. Beim Titriren der verschiedenen Plasma's mit zehntel-normal-Salzsäure fand ich aber keinen Unterscheid in dem Alkaligehalt von Peptonplasma und entkalktem Plasma, der die leichtere Ausscheidung des Nucleoalbumins aus dem Peptonplasma erklären könnte [1]).

Wenn auch diese Frage einstweilen unbeantwortet bleiben muss, dennoch giebt, wie ich glaube, die Möglichkeit aus jedem Plasma, in welcher Weise auch die Gerinnung hintangehalten sein möge, mittelst Ansäuern und Abkühlen einen, in Form und Eigenschaften ganz mit dem WOOLDRIDGE'schen A. Fibrinogen übereinstimmenden Niederschlag zu erhalten, volles Recht die von WOOLDRIDGE als einen Mutterstoff des Fibrins angesprochene Substanz, als einen Mutterstoff des Fibrinferments zu betrachten.

Nach Allem was schon über die Entstehung des Fibrinferments, hauptsächlich durch die Arbeite von A. SCHMIDT und seine Schüler, ans Licht gekommen ist, kann wohl schwerlich daran gezweifelt werden, dass das Nucleoalbumin aus den Formelementen des Blutes beim Absterben, frei wird. Ganz in Einklang mit dieser Auffassung ist die Wirkung verschiedener die Gerinnung des Blutes verhindernden Stoffe.

In allen von mir untersuchten Fällen wirken diese Stoffe der Entstehung des Fibrinfermentes entgegen; einige binden die Kalk-

---

[1]) Nach dem Abschluss dieser Arbeit erfuhr ich dass J. SALVIOLI den Alkaligehalt des Peptonblutes niedriger als denjenigen normalen Hundeblutes gefunden hat. (Arch. Ital. de Biologie, T. XVII, p. 155). Meine diesbezüglichen Versuche sind nicht zahlreich genug dass ich darin genügenden Grund finden könnte das Resultat SALVIOLI's anzuzweifeln. Nur will ich bemerken dass S. nichts über die Reaction der injicirten Peptonlösung mittheilt. Lösungen von Handelspepton reagiren oft sauer.

SALVIOLI fand weiter, dass die rothen Blutkörperchen des Hundes im Peptonblut besser conservirt bleiben als in normalem Blut. Ich bin sehr bereit anzunehmen dass Albumose einigermassen eine schützende Wirkung auf die rothen Blutkörperchen, wie Blutegelextract und Fluornatrium dieselbe haben, besitzt, ebenso wie es, sowie die beiden genannte Stoffe, der Wirkung von schon gebildetem Fibrinferment mehr oder weniger hinderlich ist. Meiner Ansicht nach ist aber die Wirkung der Albumose in dieser Hinsicht von untergeordneter Bedeutung, in Vergleich zu dem Einfluss welchen sie durch die Bindung des Kalkes auf die *Bildung* des Fibrinferments hat.

salze des Plasma's, andere dagegen beeinflussen das Nucleoalbumin oder verhindern das Freiwerden desselben, wieder andere wirken in beiden Richtungen zu gleicher Zeit.

Kalium- und Natriumoxalat sind nur wirksam durch die Fällung des Kalkes. Beim Absterben der im Blut schwebenden Elemente kommt Nucleoalbumin in Lösung; es kann aber, bei Mangel an Kalk, das Fibrinogen nicht verändern. Hinzufügen von $Ca\,Cl_2$ oder $Ca\,SO_4$ ruft, in kurzer Frist, vollkommene Gerinnung hervor.

In derselben Weise wirken citronensaure Alkalien. GRIESBACH vermuthet, Ammoniumcitrat fixire die Zellen des Blutes und wirke dadurch der Gerinnung entgegen [1]. Ich will nicht ganz in Abrede stellen, dass Citrate eine einigermassen conservirende Wirking auf die Formelemente des Blutes haben können, dass darauf aber die Verhindering der Gerinnung beruht, kann ich nicht zugeben. Ich habe in Beziehung hierauf das Blut des Hundes, des Kaninchens und des Pferdes untersucht, und jedesmal gefunden, dass mit Natriumcitrat gemischtes Blut ebenso leicht wie mittelst Kaliumoxalat flüssig gehaltenes Blut durch Hinzufügen von $Ca\,Cl_2$ oder $Ca\,SO_4$ zur Gerinnung gebracht wird, was wohl nicht der Fall sein würde wenn das Nucleoalbumin nicht in gelöster Form vorhanden war. Citronensäure fällt den Kalk des Plasma's nur theilweise. Das, mittelst Centrifugiren erhaltene, klare Plasma giebt mit Ammoniumoxalat noch deutliche Kalkreaction. Calciumcitrat ist aber ein Salz, welchem das Nucleoalbumin nicht oder nur sehr schwer Kalk zu entnehmen im Stande ist, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht:

I. Nucleoalbumin aus Oxalatplasma des Hundes wird gemischt mit einer Lösung reinen Fibrinogens. Die Flüssigkeit wird in zwei Hälften *a* und *b* getheilt. Bei *a* werden ein Paar Tropfen $Ca\,Cl_2$ 1 pCt. zugesetzt, bei *b* einige Tropfen einer gesättigten Calciumcitratlösung [2]. *a* ist nach $1\frac{1}{2}$ Stunde vollständig geronnen, während *b* nach 24 Stunden noch keine Spur von Gerinnung zeigt, dann aber, nach Verdünnung mit Wasser, ein sehr geringfügiges Gerinnsel absetzt.

II. Oxalatplasma des Hundes, mit zwei Volum Wasser verdünnt

---

[1] Pflüger's Archiv, Bd. L, S. 537.

[2] Die Bereitung war folgende: Natriumcitratlösung wurde mit Chlorcalcium versetzt. Die Flüssigkeit wurde, um die Ausscheidung des Calciumcitrats zu fördern, einige Augenblicke gekocht, und dann filtrirt. Der Niederschlag wurde mit Wasser gewaschen und darauf bis zur Sättigung in Wasser gelöst. Die Lösung enthielt 0.12 pCt. Calciumcitrat.

und mittelst Essigsäure von Nucleoalbumin befreit, wird mit in stark verdünntem Kali gelöstem Nucleoalbumin gemischt und mit Kali genau neutralisirt. Die beim Neutralisiren sich trübende und mit ein wenig Na Cl wieder aufgeklarte Flüssigkeit wird in zwei Theile *a* und *b* vertheilt. Bei *a* werden ein Paar Tropfen Ca Cl_2 1 pCt. zugesetzt, bei *b* einige Tropfen einer gesättigten Calciumcitratlösung. *a* ist nach 15 Minuten völlig geronnen, in *b* hat sich nach einer Stunde ein nur sehr geringfügiges Coagulum gebildet.

III. Citratplasma des Pferdes, mit zwei Volum Wasser verdünnt und mittelst Essigsäure von Nucleoalbumin befreit, wird mit in stark verdünntem Kali gelöstem Nucleoalbumin aus Oxalatplasma des Hundes vermischt, und mit Kali neutralisirt. Die Flüssigkeit wird beim Neutralisiren trübe, und nach Zusatz von ein wenig Na Cl wieder klar. Sie wird in zwei Theile *a* und *b* vertheilt. Bei *a* ein Paar Tropfen Ca Cl_2 1 pCt., bei *b* einige Tropfen Calciumcitratlösung. *a* ist nach 20 Minuten vollständig geronnen, *b* gerinnt nicht.

Das aus Citratplasma bereitete Nucleoalbumin unterscheidet sich in keiner Hinsicht von dem aus auf andere Weisen vor Gerinnung geschütztem Plasma erhaltenen.

Die Ursache des Flüssigbleibens von in Natriumcitrat aufgefangenem Blut (ich gebrauchte etwa 10 C.C. 5 procentige Natriumcitratlösung auf 90 C.C. Blut) ist also in der Bindung des Kalkes von der Citronensäure, nicht in der Abwesenheit von Nucleoalbumin zu suchen. Wie aus den oben citirten Versuch I abgeleitet werden muss, scheint das Calciumcitrat bei starker Verdünnung der Lösung etwas leichter an das Nucleoalbumin Kalk abzugeben. In Einklang damit fand ich auch bisweilen, dass Citratplasma, ohne Zusatz eines Kalksalzes, durch Verdünnung mit Wasser in geringen Maasse zur Gerinnung gebracht wurde.

Anders verhält sich das Blut welches durch Vermischung mit Blutegelextract flüssig gehalten wird.

Das Extract wurde in der bekannten Weise bereitet. Die Blutegelköpfe wurden eine Zeit lang, bisweilen einige Tage, bisweilen aber auch Wochen oder Monate, unter 97 procentigen Alkohol gehalten, dann über Schwefelsäure getrocknet, und darauf, fein zerschnitten, in soviel indifferenter Kochsalzlösung gebracht, dass auf einem Blutegelkopf 10 C.C. Flüssigkeit kam. Nach 24 Stunden wurde die Flüssigkeit filtrirt. Das Blut verschiedener Thierarten blieb immer flüssig wenn es, in dem Verhältniss von 4 Volum Blut auf 1 Volum Blutegelextract, mit diesem Extract vermischt wurde.

Das klare Plasma, mittelst Centrifugiren von derartigem Blut erhalten, gerinnt nicht nach Verdünnung mit Wasser, oder nach

Hindurchleiten von Kohlensäure, oder nach Zusatz von $Ca\,Cl^2$ oder $Ca\,SO^4$, aber es gerinnt wohl und vollständig nach Zusatz von aus Blutplasma ausgeschiedenem Nucleoalbumin. Hier ist also kein Mangel an für die Bildung des Fibrinfermentes brauchbaren Kalksalzen, sondern Mangel an Nucleoalbumin.

Damit steht auch in Einklang dass bei der Einspritzung von Blutegelextract in die Venen bei Thieren gar nicht diese heftigen Vergiftungsymptome wie bei der Injection von Kalk bindenden Substanzen beobachtet werden. Bei der Einspritzung von Blutegelextract kann zwar eine Blutdruckerniedrigung vorkommen, sie ist dann aber unbedeutend, und schnell vorübergehend. Auch Zeichen von Dyspnoe und von Schmerz, und Würgbewegungen werden hier nur in geringem Maasse, oder ebenso wie die Blutdruckerniedrigung, gar nicht gefunden.

Bei einem Hunde von 6 K.G. wurden in der Zeit von 10 Minuten 145 CC. Blutegelextract in die Vena jugularis injicirt. Der Blutdruck, in der Art. cruralis gemessen (zwischen dem Quecksilber des Manometers und dem Blut der Arterie befand sich Blutegelextract) war vor der Einspritzung ± 160 Mm., und stieg, während und nach der Injection, ohne die geringste vorübergehende Senkung, bis auf 170 bis 180 Mm. an. Nach der Einspritzung von 40 CC. machte das Thier eine Würgbewegung. Ueberigens war nichts Abnormes zu beobachten. Das nach der Injection ausgeflossene Blut blieb ganz flüssig.

Bei einem Kaninchen von 2100 Grm. wurde in der Zeit von 4 Minuten 40 CC. Blutegelextract in die Vena jugularis eingespritzt. Der Blutdruck in der Carotis, welcher vor der Injection ± 130 M. betrug, behielt während und nach der Injection dieselbe Höhe. Das darauf entnommene Blut gerann nicht.

Ein Paar Beispiele mögen hier nog Platz finden um zu zeigen dass, wenn auch schon einige Vergiftungsymptome auftreten, dieselbe auch nicht entfernt in Vergleich kommen können mit dem was bei der Einspritzung von Kalk bindenden Stoffen beobachtet wird.

Bei einem Hund von 6.5 Kg. wurden innerhalb einer Minute 40 CC. Blutegelextract in die Vena jugularis eingespritzt. Das Thier wurde unruhig und schrie. Der Blutdruck, in der Carotis gemessen, sank von ± 170 Mm. bis auf ± 70 Mm. Sogleich aber wurde der Hund wieder ruhig — ohne auch nur im Geringsten in Betäubung zu gerathen — und fing der Blutdruck an wieder zu steigen, sodass derselbe 3 Minuten nach der Einspritzung wieder eine Höhe von ± 125 Mm. erreicht hatte. Jetzt wurden, innerhalb 6 Minuten noch 60 CC. des Extractes injicirt, wobei das Thier ruhig blieb, und der

Blutdruck bis auf ± 155 Mm. anstieg, um, nach Ablauf der Injection, auf dieser Höhe zu bleiben. Das darauf der Carotis entnommene Blut blieb ganz flüssig.

Bei einem anderen Hund von 7 Kg. wurde in der Zeit von 2 Minuten 90 CC. Blutegelextract in die Vena jugularis eingespritzt. Das Thier wurde unruhig, und der Blutdruck in der Carotis, der vor der Einspritzung ± 160 Mm. betrug, sank, stieg aber bald wieder an, sodass dieselbe 1 Minute nach der Einspritzung wieder die Höhe von ± 160 Mm. erreicht hatte. 2 Minuten nach dem Ende der Injection wurden noch 60 CC., im Laufe einer Minute, eingespritzt. Der Hund fing an stark zu zittern, und der Herzschlag wurde sehr langsam. Während jeder Herzpause sank der Druck tief, um bei jeder Systole wieder ebensoviel an zu steigen. Bald kam das Thier zur Ruhe, der Herzschlag wurde wieder normal, und eine Viertelstunde nach der Injection war die Unruhe ganz verschwunden, und der mittlere Blutdruck 130 Mm. Das darauf aus der Carotis aufgefangene Blut gerann nicht.

Indem also das Blutegelextract die Kalksalze des Blutes unberührt lässt, beugt es dem Freiwerden des Nucleoalbumins vor. Dabei stellt sich heraus dass das Nucleoalbumin von den Blutkörperchen herstammt. Wenn man nämlich die, mittelst der Centrifuge vom Plasma getrennten, Blutkörperchen mit Wasser behandelt, so löst sich bei der Zerstörung der Körperchen die Substanz welche das Plasma zur Gerinnung nöthig hat. Wird die lackfarbige Flüssigkeit mit dem klaren Plasma vermischt, so folgt vollständige Gerinnung. Aus dieser lackfarbigen Flüssigkeit, welche sich durch Filtriren ziemlich wohl von den Blutkörperchenresten trennen lässt, kann mittelst Essigsäure Nucleoalbumin gefällt werden, welches, ebensogut wie von Oxalatplasma herstammendes Nucleoalbumin, das klare Blutegelplasma zur Gerinnung zu bringen im Stande ist. Auch wenn die aus dem Blut abgesetzten Körperchen in ein gleiches Volum 10 procentiger Kochsalzlösung vertheilt, und dann wieder mit der Centrifuge von der Salzlösung getrennt werden, erhält man ein Extract, aus welchem, nach Entfernung des Salzes mittelst Dialyse, mit Essigsäure Nucleoalbumin gefällt werden kann, das im Stande ist, mit $Ca\,Cl_2$ reine Fibrinogenlösungen zur Gerinnung zu bringen, und das klare Blutegelplasma, ohne Zusatz von Kalksalzen, gerinnen zu machen.

Wie DICKINSON bemerkt hat [1]), kann das mit Blutegelextract ge-

[1]) Journ. of Physiol., Vol. XI, p. 566.

mischte Blut, in Gegensatz zum klaren Plasma, durch Verdünnen mit Wasser wohl zur Gerinnung gebracht werden. Die Ursache des Unterschieds ist jetzt klar. Bei Verdünnung des Blutes mit Wasser, werden die darin schwebenden Körperchen angegriffen; Nucleoalbumin kommt in Lösung, und die Bildung des Fibrinferments ist ermöglicht. Ebenso gerinnt das Plasma nach Verdünnung mit Wasser wenn die Ausscheidung der Blutkörperchen in ungenügender Maasse stattgefunden hat.

DICKINSON sagt hierüber: „Dilution of the clear plasma to any extent is without effect, but dilution with destilled water of plasma from which the corpuscles have not been removed, will sometimes provoke slow clotting" [1]).

Mir ist es aber ausnahmslos gelungen das Blut durch Verdünnung in *kurzer* Zeit zu *vollständiger* Gerinnung zu bringen, ob nun das Blut ausserhalb des Körpers in Blutegelextract aufgefangen war, oder ob die Mischung im Körper selbst, durch Einspritzung des Extractes in eine Vena, stattgefunden hatte. Es ist nur wesentlich dass eine genügende Menge Wasser zugesetzt wird.

Ein einziges Beispiel genüge:

Einem Hund von 4.7 K.G. wurde 85 CC. Blutegelextract in Verlauf von 10 Minuten in die Vena jugularis eingeflösst. Das Thier zeigte kein einziges Vergiftungsymptom. Der Blutdruck stieg während der Injection von ± 140 Mm. bis auf ± 155 Mm. an. Von dem darauf der Carotis entnommenen Blut wurden in vier Röhrchen, *a*, *b*, *c* und *d* gleiche Mengen gebracht:

a wurde mit Na Cl 0.6 pCt., *b* mit ebensoviel Na Cl 0.6 pCt. in welchem Nucleoalbumin aus Oxalatplasma gelöst war, *c* mit ½ Volum Wasser, *d* mit 2 Volum Wasser vermischt. Darauf wurden die Röhrchen in das Wasserbad bei 37° C. gebracht.

a gerann nicht;

b war nach 20 Minuten vollkommen fest geworden;

c zeigte nach ½ Stunde eine Spur von Gerinnung, war aber nach 24 Stunden nur sehr unvollkommen geronnen;

d war nach 10 Minuten vollständig geronnen.

Für die Gerinnung des Blutegelplasma's ist nämlich ein ziemlich hoher Nucleoalbumingehalt erforderlich. Setzt man zu wenig Wasser hinzu, so kommt nicht genug Nucleoalbumin in Lösung. In zahlreichen Versuchen stellte sich heraus dass klares Blutegelplasma nach Zusatz einer geringen Menge Nucleoalbumin nicht oder unvoll-

[1]) l. c., p. 568.

ständig, nach Zusatz einer grösseren Menge desselben Nucleoalbuminpräparats vollständig gerinnt.

DICKINSON hat dasselbe beobachtet in Bezug auf die Nucleoalbumin-Kalkverbindung, das Fibrinferment. Um das Blutegelplasma gerinnen zu machen, muss man ziemlich grosse Mengen von Fibrinferment zusetzen, und wenn Fibrinferment einige Stunden mit Blutegelextract bei Körpertemperatur digerirt wird, verliert es seine fibrinoplastischen Eigenschaften.

Auf diese Weise ist auch ein Befund zu erklären, der, bei oberflächlicher Betrachtung, dem aus den oben erwähnten Beobachtungen gezogenen Schluss, das Blutegelextract hälte das Freiwerden des Nucleoalbumins aus den Blutkörperchen hintan, zu widersprechen scheint — der Befund nämlich dass auch aus klarem Blutegelplasma, das durch Verdünnung nicht zum Gerinnen gebracht wird, mittelst Zusatz von 2 Volum Wasser und Ansäuern mit Essigsäure Nucleoalbumin ausgeschieden werden kann, welches vollkommen im Stande ist, mit Hülfe von Kalk Fibrinferment zu bilden.

Dabei muss in Betracht gezogen werden, dass beim Centrifugiren des Blutes viele Blutplättchen an der Oberfläche schwimmen bleiben, und das zahlreiche Blutplättchen und Leucocyten, und auch einzelne rothen Blutkörperchen nicht an den Boden geschleudert werden, sondern an den Seitenwänden des Gefässen haften bleiben. Immer kann man dann auch, beim Abhebern des klaren Plasma's, sehen, dass sich, beim Sinken des Flüssigkeitspiegels, ein weisses Wölkchen in der Flüssigkeit bildet, das unvermeidlich vom Heber mitgeführt wird. So bekommt man, auch wenn der Centrifugalapparat noch so kräftig arbeitet, nie ein Plasma das thatsächlich von Formelementen völlig befreit ist. Es scheint mir sehr zweifelhaft ob es möglich ist das Plasma ganz davon zu befreien, ohne auf andersartige Schwierigkeiten zu stossen. Filtriren durch Papier das so dicht ist dass man hoffen kann damit selbst die Blutplättchen zurückzuhalten, dauert zu lange dass man nicht fürchten müsste, die Blutkörperchen würden nicht so lange Zeit gut genug erhalten bleiben um kein Nucleoalbumin abzugeben. Lässt man Blutegelplasma längere Zeit — drei Tage z. B. — bei niedriger Temperatur mit dem Cruor in Berührung, so kann es zu einer mehr oder weniger vollständigen Gerinnung kommen, ein Beweis also dass dann, trotz dem Blutegelextract, Nucleoalbumin gelöst worden ist. Verwendet man zum Filtriren eine CHAMBERLAND'sche Kerze, welche so dicht ist dass sie Bakterien ganz zurückhält, so hält sie, meiner Erfahrung nach, nicht nur die Formelemente des Blutes, sondern auch Nucleoalbumin und Fibrinferment zurück, selbst wenn bei einem Druck von 6 bis 8 Atmos-

phären filtrirt wird. Demnach ist es mir wenigstens nie möglich gewesen mir für diese Versuche brauchbares Plasma, welches thatsächlich von den Formelementen des Blutes völlig getrennt war, zu bereiten.

Wird nun das Blutegelplasma, in welchem noch Körperchen schweben, mit Wasser verdünnt, so kommt eine geringe Menge Nucleoalbumin in Lösung, welche zwar durch das vorhandene Blutegelextract verhindert wird das Plasma zur Gerinnung zu bringen, nichtsdestoweniger aber von Essigsäure gefällt werden kann. Diese Fällung in einer kleinen Flüssigkeitsmenge gelöst, kann, weil jetzt die Concentration gross genug ist, die Wirksamkeit des Nucleoalbumin hervortreten lassen.

Der Widerspruch, verdünntes Blutegelplasma gerinne nicht, und enthalte dennoch sowohl Nucleoalbumin wie Kalksalze, ist desshalb nur scheinbar.

Aus dem Gerinnen des mit Blutegelextract vermischten Blutes sobald es mit Wasser verdünnt wird, und aus der Möglichkeit aus den von diesem Blute herkommenden Körperchen Extracte zu bereiten, welche reich an Nucleoalbumin sind und das klare Plasma leicht zur Gerinnung bringen, geht deutlich genug hervor, dass das Blutegelextract seine Fähigkeit, die Gerinnung zu verhindern, in erster Linie seinem Vermögen dankt, die im Blut schwebenden Körperchen zu conserviren, und auf diese Weise dem Freiwerden von Nucleoalbumin vorzubeugen, indem erst in zweiter Linie seine Eigenschaft in Betracht kommt, die Wirkung des Nucleoalbumins oder der Nucleoalbumin-Kalkverbindung zu hemmen, und, nach den Erfahrungen Dickinson's, deren Wirksamkeit sogar ganz zu vernichten.

Wie schön die verschiedenen in Blut vorkommenden Körperchen vom Blutegelextract conservirt werden, lehrt auch die mikroskopische Untersuchung. Insbesondere erhalten die Blutplättchen lange Zeit vollkommen ihre Form. Selbst wenn das Blut 24 Stunden gestanden hat, findet man an der Oberfläche noch eine Menge ganz homogene, genau kreisrunde Blutplättchen, welche nicht zusammenkleben. Je länger das Blut steht, desto grösser wird die Zahl von unregelmässigen und zu Klümpchen zusammengeklebten Blutplättchen.

Die Eigenschaft des Blutegelextractes das Blut vor Gerinnung zu schützen, und die Form der Blutkörperchen vortrefflich zu erhalten, kann mit Vortheil bei der mikroskopischen Blutuntersuchung, im Besonderen beim Zählen von Blutkörperchen verwendet werden, zumal das Extract durch Kochhitze nicht zerstört wird, und also, durch Kochen sterilisirt, und mit einem Wattepropf vor dem Eindringen von Bakterien geschützt, stets vorräthig gehalten werden kann.

Ich muss hierbei aber bemerken, dass die Wirksamkeit des Extractes durch Kochen zwar nicht vernichtet, aber doch einigermaassen verringert wird. Zum Beispiel:

Aus der Carotis eines Hundes wird in zwei Gläser, welche jedes 30 CC. Blutegelextract, das eine, A. ungekochtes, das andere, B. gekochtes, enthalten, je 120 CC. Blut aufgefangen. In beiden Gläsern bleibt das Blut flüssig, die Blutplättchen sind aber in B nicht so schön erhalten geblieben wie in A. Beide Gemische werden centrifugirt. Nachdem das klare Plasma abgehebert ist, werden die Blutkörperchen von A und B in 0.6 pCt. Na Cl vertheilt, centrifugirt, und, ohne dass die Flüssigkeit von den Körperchen abgehebert wird, die Nacht über im Eisschrank aufbewahrt. Am folgenden Morgen wird in B ein weiches, farbloses Coagulum in der Salzlösung gefunden, indem die abgesetzten Blutkörperchen in einer weichen Gallerte eingeschlossen sind. In A ist, weder in der Flüssigkeit, noch in der Blutkörperchenschicht, die Spur von einer Gerinnung zu beobachten. — Das klare Plasma von B blieb ebenso gut flüssig wie dasjenige von A.

Arthus und *Pagès* haben nachgewiesen dass auch Fluoride die Gerinnung zu verhüten im Stande sind [1]. Sie setzen die Wirkung von Fluor ganz in einer Linie mit derjenigen von Oxalsäure. Wenn Blut in Fluornatrium aufgefangen wird, so bleibt, nach der Auffassung dieser Forscher, die Gerinnung nur darum aus, weil der Kalk als Fluorcalcium gebunden, und so unfähig gemacht wird zur Bildung von Fibrinferment beizutragen. Noch in einer späteren Arbeit sagt ARTHUS in Bezug hierauf: „l'addition de doses supérieures à 1.5 pM. n'empêche la coagulation qu'en éliminant les sels calciques, le sang fluoré à 1.5 pM. coagulant toujours par addition de chlorure de calcium en quantité suffisante" [2].

Meiner Erfahrung nach verhält sich die Sache nicht so einfach, sondern wirkt Fluornatrium nicht nur durch das Festlegen der Kalksalze, es verhindert ausserdem auch das Freiwerden des Nucleoalbumin aus den Blutkörperchen.

In Bezug hierauf habe ich das Blut des Pferdes und des Rindes untersucht, und ich fand in den beiden Blutarten, hinlänglich die Wirkung des Fluornatrium, keinen Unterschied, ausser hierin dass, indem Pferdeblut bei einem Gehalt an Fluornatrium von 0.15 pCt. ganz flüssig blieb, für das Ausbleiben der Gerinnung beim Rindsblut ein Gehalt von 0.25 pCt. erforderlich war. Wird nun dem

---

[1]) Arch. d. Physiol. norm. et pathol., Série V, T. II, p. 739.

[2]) ibid., Série V, T. IV, p. 345.

Fluorblut eine genügende Menge einer 1-procentigen Ca Cl_2-Lösung zugesetzt, so wird Gerinnung beobachtet, bei Zusatz aber einer 10-procentigen Chlorcalciumlösung, deren Menge also 10 Mal geringer sein kann, bleibt die Gerinnung aus, oder gerinnt das Blut nur sehr langsam und unvollständig. Es stellte sich heraus dass die Ursache des Unterschiedes in der Verdünnung des Blutes gelegen war. Zusatz von Wasser allein verursacht keine Gerinnung, ist aber einmal das Blut durch Wasserzusatz lackfarbig gemacht, dann ruft Chlorcalcium immer völlige Gerinnung hervor.

Hindurchleiten von CO_2 verursacht ebenso wenig Gerinnung wie in mit Kaliumoxalat oder mit Blutegelextract vermischtem Blut.

Setzt man zum durch Centrifugiren erhaltenen Plasma Ca Cl_2 hinzu, so entsteht ein grosser, käsiger Niederschlag. Auch hier bleibt die Gerinnung ganz oder nahezu ganz aus, wenn nur einzelne Tropfen einer 10-procentigen Chlorcalciumlösung zu einigen C.C. Plasma hinzugesetzt werden. Ist aber das Plasma mit Wasser verdünnt, so gerinnt die Flüssigkeit nach Zusatz von Ca Cl_2, wiewohl der Niederschlag, dessen Natur mir nicht näher bekannt geworden ist, der aber gewiss viel zu voluminös ist als dass man denselben als nur aus Fluorcalcium bestehend betrachten dürfte, ebenso gut wie im unverdünnten Plasma gebildet wird.

Es ist also, abgesehen von der Bildung des käsigen Niederschlags, ein Unterschied zwischen Fluorplasma und Blutegelplasma, in dem Sinne, dass beim Ersteren das bei Verdünnung mit Wasser frei werdende Nucleoalbumin das Plasma, bei Anwesenheit von Chlorcalcium zum Gerinnen bringen kann, was bei dem Blutegelplasma nicht der Fall ist. Dagegen ist Uebereinstimmung in so weit, dass in beiden Plasma's, wenn sie an Blutkörperchen noch reich sind, die Zerstörung der Blutkörperchen, in Folge welcher Nucleoalbumin in Lösung kommt, die Fibrinbildung, wenn wenigstens dem Fluorblut ein Kalksalz zugesetzt wird, ermöglicht wird. Der Unterschied ist leicht zu erklären. Wenn auch — was ich zu glauben geneigt bin — Fluornatrium, ebenso wie Blutegelextract, einen gewissen hemmenden Einfluss auf die Wirkung des Fibrinferments haben mag, so würde dieser Factor doch sogleich nach dem Zusatz von Chlorcalcium, wodurch ja das Fluor gebunden wird, in Wegfall kommen, während dieses Salz das Blutegelextract unberührt lässt.

Aus Fluorplasma kann, indem man es mit 2 Volum Wasser verdünnt und mit Essigsäure ansäuert, Nucleoalbumin von den oben beschriebenen Eigenschaften ausgeschieden werden. So wurde z. B. aus Fluorplasma des Pferdes gefälltes Nucleoalbumin in Na Cl 0.7 pCt. gelöst, bei 0⁰ daraus wieder in der Form von „A. Fibrinogen" ge-

fällt, nochmals bei 35° C. in Na Cl 0.7 pCt. gelöst, und darauf der Reihe nach mit Kalkwasser, Kohlensäure und atmosphärischer Luft behandelt. Die so erhaltene Fermentlösung brachte das ursprüngliche Fluorplasma in 5 Minuten zum Gerinnen, und reine, resp. aus Hundeblut und aus Pferdeblut bereitete Fibrinogenlösungen in 2 Minuten.

Auch die aus dem Blut abgesetzten Blutkörperchen liefern nach Behandlung mit Wasser Nucleoalbumin, das mit Hülfe von Kalk als Fibrinferment wirkt.

Das Fluorplasma kann vom überschüssigen Fluornatrium befreit werden, durch Dialyse gegen eine indifferente Kochsalzlösung. Die im Plasma suspendirten Körperchen geben dann, indem das conservirende Salz entfernt wird, Nucleoalbumin ab. In Folge dessen bildet sich schon im Dialysator ein, wenn auch ziemlich geringfügiges Coagulum. Von Fluornatrium wird nämlich der Kalk nicht, wie von Oxalaten, vollständig aus dem Plasma gefällt. Man kann sich davon überzeugen, indem man klares Fluorplasma mit Ammoniumoxalat behandelt. Dann bildet sich nach einigen Augenblicken ein deutlicher Calciumoxalatniederschlag. Wenn also dass Nucleoalbumin während der Dialyse frei kommt, so findet es ein wenig Kalksalz zur Verfügung, zur Bildung von Fibrinferment. Jene Kalkmenge ist aber nur sehr gering, und in Folge dessen bleibt das Fibrinogen zum weitaus grössten Theil unverändert. Wird jetzt zu dem dialysirten und vom Gerinnsel getrennten Plasma $Ca\,Cl_2$ gesetzt, so bleibt die Bildung des käsigen Niederschlags, welcher im unveränderten Fluorplasma von $Ca\,Cl_2$ hervorgerufen wird, aus, und die Flüssigkeit wird bald vollkommen fest.

Die Befunde bezüglich der Wirkung von Blutegelextract und Fluornatrium liefern also eine Stütze für die aus anderen Gründen schon sehr plausibele Ansicht, dass der Mutterstoff des Fibrinferments, das Nucleoalbumin, von den im Blut befindlichen Körperchen herstammt. Es kommt mir wahrscheinlich vor, dass alle drei Arten von diesen Körperchen, die rothen Blutkörperchen, die Leucocyten und die Blutplättchen dabei im Spiel sind. Welche von diesen dann in erster Linie bei der Bildung des Nucleoalbumins in Betracht kommen scheint mir einstweilen noch nicht gut zu beurtheilen zu sein.

Halliburton und Friend [1]) erhielten aus den sorgfältig mit 1-procentiger Kochsalzlösung gewaschenen rothen Blutkörperchen in

---

[1]) Journ. of Physiol., Vol. X, p. 532.

reichlicher Menge eine Substanz, welche von HALLIBURTON früher schon aus Zellen aus Lymphdrüsen isolirt, und mit dem Namen „Cell globulin β", oder kurz „Cell-globulin" belegt war, eine Substanz welche im Stande war die Gerinnung von Natriumsulfatplasma zu befördern, und welche von $Mg\,SO_4$ vollständig gefällt wird, und in 5- bis 10 procentiger Kochsalzlösung, bei etwa 65° C. gerinnt. Es kommt mir sehr wahrscheinlich vor dass dieses, „Cell-globulin" nicht ein wahres Globulin ist, sondern das oben beschriebene Nucleoalbumin. Ich habe „Cell-globulin" nach einer der von HALLIBURTON angegebenen Methoden [1]) aus Lymphdrüsen des Rindes bereitet. Die frischen Lymphdrüsen wurden fein zerhackt, und in eine reichliche Menge 97-procentigen Alkohol gebracht. Nach 16 Tagen wurde der Alcohol abfiltrirt. Das Drüsengewebe wurde an der Luft getrocknet, und mit 10-procentiger Kochsalzlösung extrahirt. Das Extract fing bei 48° C. sich zu trüben an. Es wurde bis auf 50° C. erhitzt und dann filtrirt. Das klare Filtrat fing an bei weiterer Erhitzung, bei 60° C. trübe zu werden, und wurde bei 65° C. flockig. Jetzt wurde ein Theil des Extractes mittelst Dialyse vom Ueberschuss des Salzes befreit, und darauf mit soviel Salzsäure versetzt, dass die Flüssigkeit 0.1 pCt. H Cl enthielt. Die Flüssigkeit war leicht opalisirend, konnte aber durch wiederholtes Filtriren klar erhalten werden. Das Filtrat wurde mit einer klaren Pepsinlösung in 0.1 pCt. H Cl versetzt, und auf Körpertemperatur gebracht. Jetzt trübte sich die Flüssigkeit, und schied einen in Essigsäure unlöslichen, in Ammon aber leicht löslichen Niederschlag aus.

Es scheint mit nun nicht allzu gewagt, anzunehmen dass die von HALLIBURTON und FRIEND aus den rothen Blutkörperchen isolirte, und als Cell-globulin beschriebene Substanz Nucleoalbumin war, umsomehr als ich wiederholte Male aus den mit 0.6 bis 1-procentiger Kochsalzlösung gewaschenen rothen Blutkörperchen, durch Behandlung mit Wasser und dann mit Essigsäure, bedeutende Mengen Nucleoalbumin, das mit Kalk Fibrinogen zur Gerinnung brachte, bereiten konnte.

Ein ganz strenger Beweis, dass dieses Nucleoalbumin thatsächlich von den rothen Blutkörperchen selbst herstammt, wird in dieser Weise nicht geliefert. Denn, auch wenn die obere Cruorschicht entfernt wird, befinden sich zwischen den rothen Blutkörperchen immer zahlreiche Leucocyten und auch Blutplättchen. Auch wenn, wie in HALLIBURTON und FRIEND's Versuchen, die Leucocyten mittelst Aether vom dem mit Wasser behandelten Cruor getrennt werden,

---

[1]) Journ. of Physiol., Vol. IX, p. 258.

so hat man doch gar keine Garantie dass nicht die Zellen schon zuvor dem Wasser, mit welchem der salzgetränkte Cruor behandelt wurde, Nucleoalbumin abgegeben haben. Auch aus den zwischen den Blutkörperchen eingeschlossenen Blutplättchen wird vielleicht Nucleoalbumin in die Flüssigkeit aufgenommen. Die Arbeit LILIENFELD's [1]) hat es ja sehr wahrscheinlich gemacht dass diese Körperchen Nucleoalbumin enthalten.

Vielleicht darf aber aus der grossen Menge des Nucleoalbumins, das ich mittelst Essigsäure aus dem mit Wasser behandelten Cruor erhielt, (auch HALLIBURTON und FRIEND theilen mit dass sie Cellglobulin „in abundance" fanden) gefolgert werden, dass dieser Stoff auch von den rothen Blutkörperchen geliefert wird.

Dass das Nucleoalbumin, wenigstens zu einem grossen Theil, von den Leucocyten herstammt, wird wohl von Niemand bezweifelt werden. Ob man das Recht hat mit RAUSCHENBACH [2]) in dieser Hinsicht zweierlei Art von Leucocyten zu unterscheiden, will ich ganz unbesprochen lassen. Es scheint mir dass die Kenntniss der farblosen Zellen des Blutes noch gar nicht weit genug fortgeschritten ist um darüber zu urtheilen.

Wie sehr ich der Annahme geneigt bin dass die Blutplättchen bei der Bildung des Fibrinferments eine wichtige Rolle spielen, so habe ich doch zu wenig Thatsachen für die Vertheidigung einer solchen Meinung zu meiner Verfügung. So lange es noch nicht einmal sicher bekannt ist, ob diese Körperchen im völlig normalen, strömenden Blut vorhanden sind, scheint mir das Bestreben die Bedeutung dieser Elemente — ausser für die Bildung des weissen Thrombus — zu erforschen, unfruchtbar.

Einstweilen kann also nur gesagt werden dass das Nucleoalbumin aus den im Blut schwebenden Körperchen, bei derem Absterben, entsteht, ohne nähere Präcisirung der Bedeutung welche die verschiedenen Arten dieser Körperchen dabei haben.

Die Verbindung des Nucleoalbumins mit Kalk, das Fibrinferment, kommt, soweit ich finden konnte, in ihren Eigenschaften sehr nahe mit dem freien Nucleoalbumin überein. Sie ist löslich in verdünnten Salzlösungen, und wird durch Dialyse unvollständig daraus gefällt. Die Temperatur wobei sie gerinnt, und zugleich ihre Wirksamkeit verliert, wird oft etwas höher gefunden wie beim freien Nucleoalbu-

---

[1]) Referirt im Centralbl. f. Physiologie, Bd, V, S. 841,

[2]) Dissert. Dorpat, 1882.

min. Auf diesen Unterschied darf aber nicht viel Gewicht gelegt werden, mit Rücksicht auf den Einfluss von Salzgehalt und Concentration der Flüssigkeit auf die Gerinnungstemperatur. So wurde z. B. eine Nucleoalbuminlösung in $NaCl$ 0.7 pCt., welche bei 69° C. flockig gefällt wurde, nach Behandlung mit Kalkwasser in Ueberschuss und Kohlensäure, erst bei 73° C. flockig. Die Flüssigkeit hatte sich aber auch beim Hindurchleiten der Kohlensäure getrübt, und konnte also erst filtrirt für die Bestimmung der Gerinnungstemperatur gebraucht werden. Die Trübung konnte theilweise vielleicht von $CaCO_3$ verursacht sein, nachdem ein ziemlich grosser Ueberschuss von Kalkwasser zugesetzt war, sie bestand aber theilweise gewiss auch aus eiweissartiger Substanz, wie aus der Klebrigkeit des Niederschlags hervorging.

Die Nucleoalbumin-Kalkverbindung wird ebenso wie das nicht an Kalk gebundene Nucleoalbumin, falls die Lösung salzarm is, von Essigsäure gefällt, und von einem Ueberschuss dieser Säure wieder gelöst. So kann auch das Fibrinferment mittelst Essigsäure aus Blutserum ausgeschieden werden, durch Verdünnung der Flüssigkeit mit Wasser, und Zusatz von soviel Essigsäure dass das anfangs gefällte Serumglobulin sich, grösstentheils wenigstens, wieder löst. Der Niederschlag kann dann, durch wiederholtes Lösen in Alkali und Fällen mit Essigsäure gereinigt werden. Man kann sich aber nicht mit Sicherkeit davon überzeugen, dass das in dieser Weise bereitete Ferment thatsächlich Serumglobulinfrei ist. Dieser Zweck kann erreicht werden durch Verwendung des Princips der HAMMARSTEN'schen Methode für die Bereitung eines ganz Serumglobulinfreien Ferments. Wenn Rinderserum mit $MgSO_4$ gesättigt wird, bleibt, bekanntlich, ebenso wie beim Pferdeserum, das Fibrinferment theilweise gelöst. Wird nun das Filtrat kräftig dialysirt, bis es mit Kalilauge nur mehr eine geringe Trübung giebt von MgH_2O_2, so wird die Flüssigkeit, nach vorsichtigem Zusatz von verdünnter Essigsäure, zuerst opalescirend, und bald darauf bilden sich sehr feine Flöckchen, welche, mit Hülfe der Centrifuge, von der Flüssigkeit getrennt werden können. Der Bodensatz, in einer äusserst verdünnten Sodalösung gelöst, bringt reines Fibrinogen zur Gerinnung und bildet, mit Salzsäure und Pepsin digerirt, einen Niederschlag von Nuclein.

Auch aus der nach HAMMARSTEN's Methode aus Rinderblutserum bereiteten Fermentlösung kann, nach kräftiger Dialyse, das Ferment mittelst Essigsäure gefällt werden. Man hat hierin ein Mittel zur Hand das Fibrinferment nicht nur von dem Serumglobulin, sondern auch von dem Serumalbumin vollkommen zu trennen. Nur ist es ein Uebelstand dass grosse Flüssigkeitsmengen verarbeitet werden

müssen mit einer nur geringen Ausbeute von Ferment, und dass das Ferment, wenn es längere Zeit in Lösung gehalten, oder in feuchtem Zustande aufbewahrt wird, ebenso wie das kalkfreie Nucleoalbumin, leicht alterirt wird.

Bei der Behandlung mit Essigsäure wird der Kalk nicht von dem Nucleoalbumin getrennt, ebenso wenig wie bei der Behandlung der Ferments mit Oxalaten. Die Wirksamkeit des mittelst Essigsäure gefällten Ferments wird durch Zusatz von $Ca\,Cl_2$ nicht im Geringsten erhöht. Offenbar ist das Calcium im Fibrinferment in ganz anderer Weise gebunden wie in den gewöhnlichen Kalksalzen.

Das Nucleoalbumin das aus den Formelementen des Blutes erhalten werden kann, ist nicht die einzige derartige Substanz, welche mit Kalk Fibrinferment bildet.

In meiner vorigen Mitheilung habe ich schon angegeben, dass die durch Essigsäure fällbare Substanz welche aus der Thymusdrüse erhalten werden kann, und von WOOLDRIDGE „Gewebsfibrinogen" genannt ist, nicht für sich allein, wohl aber in Vereinigung mit Kalksalzen, Lösungen von reinem, nach der HAMMARSTEN'schen Methode bereitetem Fibrinogen zum Gerinnen bringen kann. Neuerdings hat WRIGHT nachgewiesen, dass dieses „Gewebsfibrinogen" ein Nucleoalbumin ist [1]), was ich vollkommen bestätigen kann, in dem Sinne, dass die nach der Vorschrift WOOLDRIDGE's durch Behandlung von Thymus- oder Testikelextract mit Essigsäure erhaltene Fällung, zum grössten Theil aus Nucleoalbumin besteht, daneben aber auch Nuclein und andere Stoffe enthält.

Dieses Nucleoalbumin unterscheidet sich von dem aus dem Blut erhaltenen hierdurch, dass es sich weniger leicht in Ueberschus von Essigigsäure löst, es stimmt damit aber in der Wirkung auf Fibrinogen völlig überein.

Ausser demjenigen aus der Kalbsthymus, untersuchte ich das Nucleoalbumin aus Testikel von Kalb und Schafsbock, und fand jedesmal dass es, nach Zusatz von $Ca\,Cl_2$, oder nach Behandlung, der Reihe nach, mit Kalkwasser, Kohlensäure und atmosphärischer Luft, Lösungen von reinem Fibrinogen zur vollständigen Gerinnung bringen kann, ohne Kalk aber in Fibrinogen keine bemerkbare Veränderung veranlasst. Ein zweiter unterschied vom Nucleoalbumin des Blutes ist dieser, dass dasjenige aus Thymus und Testikel, wie

---

[1]) Brit. med. Journ. 1891, Sept. 19, p. 641.

auch WOOLDRIDGE bemerkt hat, einige Augenblicke gekocht werden kann ohne dass die Fermentwirking verloren geht, während das Nucleoalbumin aus dem Blut schon durch Erhitzen auf 65° bis 70° C. unwirksam gemacht wird. Wie ich früher mittheilte, geht aber auch die Wirksamkeit des Nucleoalbumins aus Thymus verloren wenn es einige Zeit hindurch (10 Minuten) auf 60° C. erhitzt wird.

Noch ein anderes Nucleoalbumin kann, mit Kalk verbunden, als Fibrinferment wirken, nämlich das Casein aus der Milch. Schon vor längerer Zeit theilte HAMMARSTEN mit dass Casein — damals noch für ein Alkalialbuminat gehalten, — die Gerinnung des Fibrinogens befördern kann [1]). Er fand dass Hydroceleflüssigkeit in welches reines Casein suspendirt wurde, nicht gerann, dass aber erst in von Paraglobulin befreitem Pferdeblutserum gelöstes, und dann mittelst Essigsäure daraus wieder gefälltes Casein leicht löslich war in Na Cl und fibrinoplastische Eigenschafte zeigte. Vielleicht beruhte der Unterschied in der Wirkung des reinen und des aus Serum gefällten Caseins nicht nur darauf, dass Ersteres nicht gelöst war, sondern auch auf dem Umstand dass Letzteres Gelegenheit gehabt hatte aus dem Blutserum Kalk aufzunehmen. Casein ist, ebenso wie anderes Nucleoalbumin, nicht im Stande ohne Kalk aus Fibrinogen Fibrin zu bilden. Sogar ist eine ziemlich grosse Menge Kalk, soviel dass die Caseinlösung deutlich opalescirend ist, erforderlich um Fermentwirking zu erhalten.

Ich bereitete das Casein nach HAMMARSTEN's Methode, durch wiederholtes Fällen mit Essigsäure und wieder Auflösen in möglichst wenig Ammon oder Kalilauge. Anfangs erhielt ich inconstante Resultate. Es stellte sich heraus dass die Ursache hierin gelegen war, dass ich nicht immer für das Vorhandensein von Kalk in genügender Menge Sorge getragen hatte. Wird das zwei oder drei Male mittelst Essigsäure gefällte Casein in so wenig Kalkwasser gelöst dass die Flüssigkeit neutral reagirt, so ruft die Lösung, mit reinem Fibrinogen vermischt, entweder keine oder nur sehr unvollständige Gerinnung hervor. Wird aber für die Auflösung ein reichlicher Ueberschuss von Kalkwasser gebraucht, und dann, um neutrale Reaction zu erhalten, der Reihe nach Kohlensäure und atmosphärische Luft hindurchgeführt (Ca CO_3 wird dabei nicht gefällt), oder werden der Lösung einige Tropfen einer Chlorcalciumlösung zugesetzt, sodass die Flüssigkeit, bei Körpertemperatur wenigstens, ziemlich stark

[1]) Nova acta reg. Soc. Scient. Upsal., Ser. III, Vol. X, Untersuchungen über die Faserstoffgerinnung, § 3, S. 15.

opalescirend ist, so veranlasst Vermischung mit einer reinen Fibrinogenlösung ausnahmslos vollständige Gerinnung.

Ebenso wie Nucleoalbumin aus Thymus und Testikel, kann auch Casein einen Augenblick auf 100^0 C. erhitzt werden ohne seine Wirksamkeit einzubüssen. Anhaltende Erhitzung zerstört aber die Wirksamkeit.

Zum Beispiel:

Zweimal mit Essigsäuie gefälltes Casein wird in Kalkwasser, bis zu äussert schwach alkalischen Reaction, gelöst. Die Lösung wird in drei gleiche Theile, *a*, *b* und *c* vertheilt. *a* wird einen Augenblick über die Flamme gekocht, *b* 5 Minuten lang im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach dem die erhitzten Röhrchen abgekühlt sind, werden in alle drei Röhrchen gleiche Mengen gebracht einer reinen Fibrinogenlösung, und ausserdem in jedes ein Tropfen 10-procentiger Chlorcalciumlösung. *a* und *b* gerinnen vollständig, in *c* zeigt sich auch nach 24 Stunden nicht die Spur einer Gerinnung,

Es giebt also verschiedene Nucleoalbumine welche unter sich gemein haben nicht nur dass sie von Essigsäure gefällt, und von einem Ueberschuss dieser Säure wieder gelöst werden, sondern auch dass sie die Fähigkeit besitzen gewissen Calciumverbindungen — $Ca\,Cl_2$, $Ca\,So_4$, $Ca\,H_2\,O_2$, aber nicht oder äusserst schwierig an $(C_6\,H_5\,O_7)_2\,Ca_3$ — Kalk zu entnehmen, und diesen wieder auf Fibrinogen, zur Fibrinbildung, zu übertragen. Es braucht kaum gesagt zu werden dass nichtsdestoweniger, trotz dieser Punkte der Uebereinstimmung, zahlreiche Verschiedenheiten zwischen den verschiedenen, in der Gruppe der Nucleoalbumine zusammengehörigen Stoffen bestehen können, ebensowie z. B. himmelsbreit auseinandergehende Eigenschafte angetroffen werden bei den in der Gruppe der Aldehyde gehörenden Stoffen, welche, kraft der Atomgruppe C O H, alle zusammen die Fähigkeit haben an in Ammon gelöstem Silberoxyd Sauerstoff zu entziehen.

Nucleoalbumin veranlasst die Gerinnung nicht, wie WOOLDRIDGE es aufgefasst hat, indem es selbst in Faserstoff übergeht. Es ist im Stande, nach dem das Ferment seinen Kalk abgegeben hat, aufs Neue Kalk aufzunehmen, und wieder die Fermentwirkung auszuüben. Blutserum enthält viel Ferment, und daneben Kalksalze in Lösung. Es trübt sich nach Vermischung mit Ammoniumoxalat. In Folge dessen kann der Fermentgehalt, auch nachdem es schon die Ausscheidung beträchtlicher Fibrinmengen veranlasst hat, ungeschwächt

gefunden werden. Anders ist es aber wenn eine Fermentlösung mit Fibrinogen vermischt wird bei Abwesenheit von Kalksalzen. Dann beobachtet man dass die Wirksamheit des Ferments bald abnimmt, durch Zusatz von Kalk in geeigneter Form aber wieder erhöht werden kann, wie aus folgenden Versuchen zu ersehen ist.

I. Oxalatplasma von Pferdeblut, mittelst Essigsäure von Nucleoalbumin befreit und darauf mit Kalilauge genau neutralisirt, das mit $Ca\ Cl_2$ keine Gerinnung giebt, wird mit einer schwachen Lösung von nach SCHIMDT's Methode bereitetem Fibrinferment versetzt, wovon eine unvollständige Gerinnung die Folge ist. Das noch Fibrinogen enthaltende Serum wird von dem Faserstoff getrennt, und in zwei gleiche Hälften getheilt. Die eine wird mit Gypslösung versetzt, die andere Hälfte mit ebensoviel Wasser. In der kalkhaltigen Flüssigkeit schied sich nun wieder ein schönes, wiewohl weiches Gerinnsel aus, in dem mit Wasser verdünnten Serum zeigte sich nicht die Spur von Fibrinbildung.

II. Nucleoalbumin aus Pferdeplasma wird in Kalkwasser gelöst. Die Lösung reagert äusserst schwach alkalisch, und wird mit dem 10-fachen Volum 97-procentigen Alkohol gefällt. Der Niederschlag bleibt einen Monat unter Alkohol, wird dann abfiltrirt und über Schwefelsäure getrocknet. Die trockene, zum Pulver zerriebene Substanz, welche in Wasser und in Na Cl nur zu einem kleinen Theil löslich ist, wird in verdünnter Kalilauge gelöst. Die Lösung wird neutralisirt, und dann mit einer reinen Fibringenlösung gemischt. Die Mischung gerinnt vollständig. Das durch Auspressen des Fibrins erhaltene Serum wird mit reinem Fibrinogen vermischt und in zwei Hälften *a* und *b* vertheilt.

Zu *a* werden 2 Tropfen $Ca\ Cl_2$ 1 pCt. zugesetzt.

a und *b* sind beide in einer halben Stunde völlig fest geworden.

Das Serum von *b* wird vermischt mit Fibrinogen, und in zwei Hälften *c* und *d* vertheilt, *c* ohne, *d* mit $Ca\ Cl_2$.

c und *d* sind beide na 1 St. 15 Min. vollständig geronnen.

Das Serum von *c* mit Fibrinogen vermischt, und in zwei Hälften *e* und *f* vertheilt, *e* ohne, *f* mit $Ca\ Cl_2$.

Jetzt ist *e* nach 24 Stunden nur unvolkommen geronnen, während *f* nach $3^1/_2$ Stunden vollständig fest geworden ist.

Das Serum von *e* von dem daraus ausgeschiedenen Faserstoff getrennt, bildet, nach Zusatz von $Ca\ Cl_2$, nach 20 Minuten ein grosses, glasartiges Gerinnsel.

Das Serum von *f* mit Fibrinogen vermischt, und in zwei Hälften *g* und *h* verteilt, *g* ohne, *h* mit $Ca\ Cl_2$.

g ist nach 10, *h* nach 8 Stunden vollkommen geronnen.

Verschiedene derartige Versuche, mit Fermentlösungen verschiedener Abstammung, gaben ähnliche Resultate.

So lange Ferment im Ueberschuss da ist, hat Zusatz von Ca Cl^2 oder Ca So_4 keinen Einfluss auf die Gerinnung. Allmählich aber giebt das Ferment so viel seines Kalks ab, dass die Lösung kaum oder nicht mehr im Stande ist, Fibrin zu bilden, wenn nicht ein Kalksalz vorhanden ist, auf Kosten welches das Nucleoalbumin wieder zum Ferment werden kann. Dann wird das Ferment regenerirt, wie die Schwefelsäure bei der Aetherbereitung aus Alkohol regenerirt wird, mit diesem Unterschied aber dass, während im genannten Fall die Schwefelsäure, wenn nur mit dem Alkohol immer aufs Neue Wasserstoff und Sauerstoff zugeführt werden, bis ins Unendliche aufs Neue entstehen kann, das Nucleoalbumin nach einiger Zeit sich ausser Stande zeigt, wieder mit Kalk zu Fibrinferment zu werden. Dies hängt damit zusammen, dass das höchst complicirte Nucleoalbumin eine sehr labile Verbindung ist, welche, selbst in neutraler Lösung, nach verhältnissmässig kurzer Zeit, ihre typischen Eigenschafte verliert. Darauf komme ich später noch zurück.

Wie ich glaube geht aus dem Mitgetheilten hervor dass WOOLDRIDGE nicht nur sein A. Fibrinogen, sondern auch die Stoffe welche er Gewebsfibrinogen und Serumfibrinogen genannt hat, unrichtigerweise für Mutterstoffe von Fibrin gehalten hat. Nur das „Serumfibrinogen" — das mittelst Essigsäure aus Blutserum gefällte Fibrinferment — dürfte in so weit diesen Namen einigermassen beansprüchen, als es Kalk liefert für das Fibrin. In diesem Sinne hat aber WOOLDRIDGE die Sache gewiss nicht aufgefasst, und es würde auch nur Verwirrung stiften, wenn man den Namen Fibrinogen nicht nur auf den Eiweissstoff, aus welchem die Hauptmasse des Fibrins entsteht, sondern auch auf das Ferment, welches bei der Bildung des Fibrins nur Kalk abgiebt, anwenden wollte. WOOLDRIDGE hat die Meinung vertheidigt, dem Fibrinferment komme nur eine sehr untergeordnete Bedeutung bei der Gerinnung zu. Er betrachtet das Ferment vielmehr als ein Gerinnungsproduct, denn als eine Ursache von Gerinnung. „Schwaches Salzplasma (10-procentiges Kochsalzplasma) und Peptonplasma", so spricht er sich aus, „enthalten kein Fibrinferment; werden sie aber verdünnt, und durch Einleiten von Kohlensäure zur Gerinnung gebracht, so findet man im Serum Fibrinferment" [1]). Wiederholt hat er in seinen verschiede-

[1]) l. c. S. 39.

nen Mittheilungen darauf aufmerksam gemacht, dass Peptonplasma durch Fibrinferment nicht zum Gerinnen gebracht wird, wohl aber, wenigstens mit Hülfe von Kohlensäure, durch „Gewebsfibrinogen", einen Stoff welcher in Lösungen von der gewöhnlich Fibrinogen genannten Substanz (ohne Kalk) keine Gerinnung hervorruft.

Es ist gewiss nicht möglich, von allen Eigenthümlichkeiten des Peptonplasma jetzt schon eine ganz befriedigende Erklärung zu geben. Es kommt mir doch aber vor, dass die genannten Beobachtungen nicht als streitig betrachtet werden dürfen mit der Auffassung, im Blut sei Fibrinogen in Lösung, das, nach dem Absterben der im Blut schwebenden Körperchen, von Fibrinferment — sei es denn mit oder ohne Spaltung — in Fibrin verwandelt wird.

In Salzplasma und in Peptonplasma wird die Vereinigung von Nucleoalbumin mit Kalk verhindert. Es giebt, wie ich in meiner vorigen Mittheilung bemerkte, Grund für die Annahme, im Salzplasma werde dieser Vereinigung entgegengewirkt durch das Salz, das die Löslichkeit des Nucleoalbumins verringert. Magnesiumsulfat, welches das Nucleoalbumin am vollständigsten fällt, hat einen grösseren Einfluss wie Chlornatrium, sodass dabei durch Verdünnen mit Wasser allein die Gerinnung nicht hervorgerufen werden kann, sondern ausserdem die Masse der Kalksalze noch vergrössert werden muss. Beim Peptonplasma kann das Nucleoalbumin sich nicht mit dem Kalk verbinden, weil dieser von der Albumose festgehalten wird. Wird nun durch Verdünnen mit Wasser oder Einleiten von Kohlensäure, die Wirkung des Kochsalzes oder der Albumose verringert oder ganz aufgehoben, so kann das Fibrinferment gebildet werden, dem Fibrinogen Kalk abgeben, und sogleich, da im Plasma reichlich Kalksalze vorhanden sind, sich regeneriren. Das Fibrinferment ist dann ganz bestimmt die Ursache der Gerinnung, und dessen Anwesenheit im Serum beweist nur, dass es die Entstehung von noch viel mehr Fibrin hätte veranlassen können, falls nur mehr Fibrinogen im Plasma vorhanden gewesen wäre.

In Bezug auf das andere Bedenken, Fibrinferment wäre nicht, Gewebsfibrinogen aber wohl im Stande Peptonplasma gerinnen zu machen, muss an erster Stelle bemerkt werden, dass Wooldridge unter Fibrinferment nur das nach der Schmidt'schen Methode bereitete versteht. Nun ist aber die nach Schmidt bereitete Lösung nicht reich an Ferment. Der lange dauernde Verbleib unter Alkohol macht nicht nur das Globulin und das Albumin des Serums unlöslich, sondern beeinflusst auch die Löslichkeit des Ferments. Wiederholt habe ich die Beobachtung gemacht, dass auch das künstlich,

aus Nucleoalbumin des Plasma's und Kalk, bereitete Ferment unter Alkohol weniger löslich wird in neutraler Salzlösung. Kräftiger wirkende Fermentlösungen als die SCHMIDT'sche können Peptonplasma wohl zur Gerinnung bringen. WOOLDRIDGE selbst fand eine, wenn auch geringfügige, Ausscheidung von Fibrin aus Peptonplasma wenn dieses mit Blutserum vermischt wurde [1]). Er schrieb aber diese Wirkung nicht dem im Serum vorhandenen Fibrinferment zu, sondern anderen Bestandtheilen des Serums, insbesondere dem Lecithin. Wäre diese Erklärung richtig, so dürfte man erwarten, dass Oxalatplasma, das doch die Bestandtheile des Serums, ausser Fibrinferment und Kalksalze, enthält, dieselbe Wirkung haben würde, und das ist nicht der Fall. Man kann zwar Peptonplasma gerinnen machen durch Zusatz von aus Plasma bereitetem Nucleoalbumin in nicht zu geringer Menge, oder von viel Nucleoalbumin enthaltendem Blutkörperchenextract, wenn wenigstens das Peptonplasma auch von Kohlensäure zur Gerinnung gebracht wird. Bleibt das Peptonplasma auch nach dem Einleiten von Kohlensäure flüssig — was u. A. der Fall ist wenn es erst durch Abkühlen grösstentheils vom Nucleoalbumin (A. Fibrinogen) beraubt ist — so kann es, wie oben mitgetheilt, durch Zusatz von Nucleoalbumin die Fähigkeit, durch CO_2 zu gerinnen, zurückbekommen. Im Oxalatplasma ist aber die Nucleoalbuminmenge zu gering, diese Wirkung auszuüben.

Als Beispiel erwähne ich folgenden Versuch:

Peptonplasma, durch Abkühlen theilweise von Nucleoalbumin befreit, das, nachdem bei Zimmertemperatur 4 Stunden lang Kohlensäure hindurchgeleitet ist, flüssig bleibt, dann aber, als es, mit CO_2 gesättigt, auf ± 25^0 C. erwärmt wird, ein weiches Coagulum bildet, wird vermischt mit:

a. Wasser	Nach 24 St. ein kleines Gerinnsel.
b. dem aus demselben Plasma ausgeschiedenen, in Wasser gelösten, Nucleoalbumin	Gerinnt in 1 Stunde vollständig.
c. stark verdünnter $Ca\,Cl_2$ Lösung	nach 24 St. vollständig geronnen.
d. Blutkörperchen desselben Peptonblutes, in Wasser	nach 2 Stunden geronnen.
e. Oxalatplasma vom Rinderblut	gerinnt nicht
f. Serum vom selben Rinderblut	nach 4 Stunden geronnen (weiches Gerinnsel).

[1]) Journ. of Physiol., Vol. IV, pag. 227.

Der Unterschied in der Wirkung von Oxalatplasma und Blutserum kann schwerlich Bestandtheilen wie Lecithin zugeschrieben werden. Zwar war das Oxalatplasma ein wenig verdünnt in Verhältniss zu dem Serum (900 C C. Blut waren in 100 C C. 1 procentiger Kaliumoxalatlösung aufgefangen); diese Verdünnung ist doch aber nicht gross genug um den Unterschied zu erklären. Es wäre aber möglich, die Wirkung des Serums beruhe nicht auf dem Fibrinferment sondern auf den im Serum gelösten Kalksalzen. Nun will ich nicht bezweifeln dass der Gehalt des Blutserums an Kalksalzen das Seinige beitragen kann zur Gerinnung des Peptonplasma's, dass aber das Fibrinferment an sich doch im Stande ist das Plasma, trotz der Albumose, zur Gerinnung zu bringen, das stellt sich heraus sobald man kräftigere Fermentlösungen als nach der SCHIMDT'schen Methode erhalten werden, in Anwendung zieht. Eine Lösung bereitet durch Extrahiren von BUCHANAN's „washed blood clot" mit 8 procentiger Kochsalzlösung, macht selbst Peptonplasma, welches durch Verdünnung mit Wasser nicht zur Gerinnung gebracht werden kann, gerinnen, und auch eine kräftig wirksame, nach der Vorschrift HAMMARSTEN's bereitete Fermentlösung ist im Stande Peptonplasma gerinnen zu machen.

Offenbar hat das Peptonplasma, ebenso wie das Blutegelplasma, in gewisser Höhe die Fähigkeit die Wirkung des Fibrinferments auf das Fibrinogen zu hindern. Kleine Fermentmengen sind darin unwirksam, ebenso wie kleine Mengen Nucleoalbumin. Wird Nucleoalbumin aber in reichlichem Maasse zugesetzt, so kommt es zur Gerinnung, auch ohne Zusatz von Kalksalzen. Wie es scheint hat in dem Streit um dem Kalk zwischen dem Nucleoalbumin und der Albumose, die Masse die von jeder dieser Stoffen vorhanden ist, einen Einfluss. Nach der Injection von viel Pepton, bei sogenanntem starkem Peptonplasma, wird die Gerinnung selbst durch das Hindurchleiten von Kohlensäure, wenigstens bei Zimmertemperatur, nicht zu Stande gebracht. Und auf der anderen Seite wird die Wirkung der Albumose gehemmt oder aufgehoben, sobald das Plasma reich an Nucleoalbumin gemacht wird. Nachdem es sich herausgestellt hat, dass das WOOLDRIDGE'sche Gewebsfibrinogen hauptsächlich aus Nucleoalbumin, das mit Kalk Fibrinferment bilden kann, besteht, ist also auch die Thatsache dass dieser Stoff, mit Peptonplasma vermischt, Gerinnung veranlasst, nicht nur nicht in Widerspruch mit der Auffassung, die Fibrinausscheidung sei die Folge der Wirkung von Fibrinferment auf Fibrinogen, sondern damit völlig in Einklang.

Von A. SCHMIDT und seinen Schülern ist, in zahlreichen Arbeiten, der Einfluss des Protoplasma's auf die Gerinnung des Blutes, innerhalb und ausserhalb des lebenden Thierkörpers, näher untersucht. Dabei hat sich herausgestellt dass nicht nur die Leucocyten des Blutes selbst, und der Lymphdrüsen, sondern auch Spermatozoide, Protozoen aus dem Froschdarm, Hefezellen [1]), Muskelfasern [2]), Material abgeben, mit Hülfe welches Blutplasma zur Gerinnung gebracht werden kann, und dass der die Gerinnung fördernde Stoff viel leichter frei wird, wenn die Zellen mit Plasma in Berührung gebracht werden, als wenn das Protoplasma mit Wasser oder Kochsalz behandelt wird. Daraus wurde gefolgert dass das Blutplasma die Fähigkeit besitzt, durch Spaltung des Protoplasma's Fibrinferment freizumachen.

Aus dem Besprochenen geht hervor dass ich glaube das Verhalten einigermaassen anders auffassen zu müssen, so nämlich, dass im Protoplasma, beim Absterben, Nucleoalbumin frei wird, welches sich in dem alkalischen Blutplasma leichter löst als in Wasser oder in einer neutralen Salzlösung, und dann nicht vom Blutplasma gespalten wird, sondern daraus Kalk aufnimmt. Die Beobachtung RAUSCHENBACH's [3]), dass Leucocyten aus Pferdeblut, welche 3 Stunden lang mit Serum aus demselben Blut in Berührung gewesen waren, in Plasma übertragen, darin bald Gerinnung veranlassten, spricht nicht gegen diese Auffassung. Es ist kein Grund anzunehmen, dass die Leucocyten durch einem Verbleib von einzelnen Stunden in Blutserum, ganz von Nucleoalbumin beraubt werden sollten. Wenn z. B. Blut durch Vermischen mit Kaliumoxalat flüssig gehalten wird, so geben die Blutkörperchen dem Plasma genug Nucleoalbumin ab, dass, wenn nur $CaCl_2$ zugesetzt wird, in kurzer Zeit vollständige Gerinnung verursacht wird, und doch kann dann aus den vom Plasma getrennten Körperchen, durch Auslaugen mit Wasser, oder mit Kochsalzlösung, eine beträchtliche Menge Nucleoalbumin erhalten werden. Dass nun die Leucocyten den Gerinnung erzeugenden Stoff dem alkalischen Plasma so viel leichter als an Wasser oder an eine neutrale Salzlösung abgeben, braucht keineswegs zu der Annahme zu führen, das Plasma bewirke eine Zersetzung, eine Spaltung der Zellsubstanz. Denn Nucleoalbumin ist sehr leicht löslich in Alkali, und, zumal bei niedriger Temperatur, viel weniger löslich in Salz. So ist es auch zu begreifen dass KRÜGER Leucocyten mit

[1]) RAUSCHENBACH, Dissert. Dorpat 1882.

[2]) GRUBERT, Dissert. Dorpat, 1883.

[3]) l. c. S. 40.

63000 Mal so viel Wasser als die Menge des Blutplasma's aus welchem sie ursprünglich hervorgegangen waren, betrug, auswaschen konnte, ohne dass sie die Fähigkeit verloren, in die Blutgefässe eines Kaninchen injicirt, intravasculäre Gerinnung zu veranlassen [1]). Das Auswaschen wurde ja mit eiskaltem Wasser gemacht, und darin ist das Nucleoalbumin so gut wie unlöslich.

Auch die Untersuchungen von J. von Samson Himmelstjerna [2]) und von Nauck [3]) über den Einfluss von stickstoffhaltigen Spaltungsproducten der Eiweisskörper auf die Fibrinausscheidung scheinen mir keinen Grund zu geben für die Meinung, die Bildung des Fibrinferments beruhe auf eine durch das Blutplasma bewirkte Spaltung von Protoplasma. Diese Stoffe, Glycocoll, Taurin, Leucin, Xanthin, Harnsäure, u. s. w., hatten ja nie mehr als einen begünstigenden Einfluss auf die Fibrinausscheidung. Dieser Einfluss war, wenn anders die Menge der Substanz nicht zu hoch gegriffen wurde, deutlich in Bezug auf von Gallensalzen flüssig gehaltenes Plasma, und auf vorher mit Fibrinferment versetzte Hydroceleflüssigkeit; mit gekühltem und filtrirtem Plasma wurden aber sehr inconstante Ergebnisse, mit Salzplasma und unvermischter Hydroceleflüssigkeit immer negative Resultate erhalten. Nauck ist offenbar geneigt anzunehmen, dass aus diesen verhältnissmässig einfachen Substanzen durch noch weiter gehende Spaltung Fibrinferment entstehen kann. So vermuthet er, mit von Samson, dass die Wirkungslosigkeit von Harnstoff „dem Umstande zuzuschreiben ist, dass aus demselben, als Endproduct der regressiven Metamorphose keine wirksamen Bestandtheile, eventuell kein Fibrinferment, mehr abgespalten werden können" [4]), und so sagt er, über die Fermentbildung im strömenden Blute handelnd, „Sofern nun nach meinen Versuchen die Extractivstoffe wahre, unmittelbare Fermentquellen darstellen, halte ich es unter solchen Umständen nicht für zu kühn, anzunehmen, dass sie im circulirenden Blute, *denselben*, mit Freiwerden von Ferment einhergehenden, Spaltungen unterliegen, wie im Gallensalzplasma und in den künstlichen Gerinnungs mischungen" [5]).

Schmidt selbst spricht sich mit mehr Zurückhaltung aus. Er theilt mit [6]) dass die Stoffe, welche aus Zellen durch Extraction mit

---

[1]) Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXIV, S. 216.

[2]) Dissert. Dorpat 1885.

[3]) Dissert. Dorpat 1886.

[4]) l. c. S. 26.

[5]) l. c. S. 37.

[6]) Centralblatt f. Physiol., Bd. V, S. 258.

Alkohol erhalten werden können, „im filtrirten Blutplasma die Entstehung von Fibrinferment bedingen", fügt aber sogleich hinzu: „fraglich aber ist es, ob bei dieser Reaction sie selbst oder irgend ein anderer Bestandtheil des Plasma die *unmittelbare* Fermentquelle darstellen".

Wie interessant übrigens die genannten Untersuchungen über den Einfluss von stickstoffhaltigen Extractivstoffen auf den Gerinnungsprocess sein mögen, sie geben, wie ich glaube, zumal diese Stoffe niemals in fermentfreien Fibrinogenlösungen Gerinnung veranlassen, keinen Grund, das Ferment selbst für ein durch das Blutplasma gebildetes Spaltungsproduct zu halten. Ich kann darin also keine Veranlassung finden, meine Folgerung, das Fibrinferment sei eine Nucleoalbumin-Kalkverbindung, wozu das Nucleoalbumin von den Blutkörperchen, der Kalk vom Blutplasma geliefert wird, anzuzweifeln.

Das Nucleoalbumin aus Thymus und aus Testikeln — WOOLDRIDGE's Gewebsfibrinogen — ist im Stande bei Thieren, leicht bei Kaninchen, viel schwieriger bei Hunden, auch im strömenden Blut Gerinnung zu verursachen. Das aus dem Blut erhaltene Nucleoalbumin besitzt diese Fähigkeit, wenigstens in Bezug auf Kaninchen, ebenso, wie aus den folgenden Versuchen hervorgeht:

I. Einem Kaninchen wird Nucleoalbumin aus Oxalatplasma des Rindes, in 0,6-proc. Na Cl mit einem sehr kleinen Zusatz von $Na_2 CO_3$ gelöst, in die Vena jugularis injicirt. Bald steigt der Druck in der Vena an, sodass die Flüssigkeit nur sehr langsam mehr aus der mit der Vena verbundenen Bürette ausfliesst. Das Thier wird von Krämpfen befallen. Die Carotis ist so gut wie leer. Nach einigen Minuten ist das Thier todt. Sogleich werden Bauch- und Brusthöhle geöffnet. In den grossen Venen wird das Blut flüssig gefunden, rechte Vorkammer und Kammer des Herzens sind aber ganz gefüllt mit geronnenem Blut. Aus der Arteria pulmonalis kommt ein langes, fadenförmiges Gerinnsel hervor.

II. Nucleoalbumin aus Oxalatplasma des Rindes, in 0.7-proc. Na Cl mit ein wenig $Na_2 CO_3$ gelöst, wird einem Kaninchen in die Vena jugularis eingespritzt. Bald zeigt das Thier Krämpfe; die Flüssigkeit in der Bürette steht beinahe still; die Athmung hört auf; der Corneareflex ist verschwunden. Bauch- und Brusthöhle werden geöffnet. Der noch pulsirende rechte Herzkammer ist voll geronnenen Blutes. Die Vena cava inf. ist ganz mit Gerinnsel

gefüllt. Das Blut in der Vena Portae ist noch flüssig; es wird aufgefangen und fängt erst nach etwa einer Stunde zu gerinnen an; erst nach drei Stunden ist es ganz geronnen.

III. Nucleoalbumin aus Oxalatplasma des Rindes, in 0.7-proc. Na Cl mit ein wenig $Na_2 CO_3$ gelöst, wird einem Kaninchen in die Vena jugularis injicirt. Das Thier wird von heftigen Krämpfen befallen, der Cornеareflex verschwindet, in die Bürette wird Blut aus der Vena hinaufgestaut; nach einigen Augenblicken steht die Athmung still. Während das Herz noch klopft, wird die Brusthöhle geöffnet. Weder im Herzen, noch in den Venen sind Coagula zu finden; aus ein Paar der grossen Aeste der Arteria pulmonalis kommen aber fadenförmige Gerinnsel hervor.

IV. Injection von Nucleoalbumin wie in den vorigen Versuchen. Das Kaninchen wird stark dyspnoisch, der Druck in der Vena steigt an, es entstehen aber keine Krämpfe, und die Athmung dauert fort. Die Canule wird aus der Vena gelöst, die Wunde wird vernäht, und das Thier losgebunden. Eine starke Stunde nach der Injection ist das Kaninchen offenbar sterbend. Bauch- und Brusthöhle werden geöffnet, während das Herz noch klopft. Ueberall wird das Blut flüssig gefunden, ausser in der Vena Portae, aus welcher ein langes, fadenförmiges Gerinnsel hervorgezogen wird.

Wie man sieht, gehen die Folgen der Injection ziemlich stark aus einander. In den Versuchen I und II war das rechte Herz ganz mit geronnenem Blut gefüllt, wahrend in Versuch III nur in den Aesten der Arteria pulmonalis Gerinnsel gefunden wurden, und in Versuch IV die Injection nicht sogleich den Tod verursachte, und bei der Oeffnung nur die Vena Portae sich von Fibrin verstopft zeigte.

In anderen Versuchen wurde nach der Injection gar nichts von intravasculärer Gerinnung beobachtet. Dann aber zeigte sich jedesmal die bemerkenswerthe Abnormität, welche auch in Versuch II in Bezug auf das aus der Vena Portae gesammelte Blut beobachtet wurde, dass das aus der Carotis des Kaninchen aufgefangene Blut erst nach einer Viertelstunde oder nach noch längerem Zeitverlauf zu gerinnen anfing, indem doch sonst das Kaninchenblut innerhalb weniger Minuten, nachdem es die Gefässe verlassen hat, vollständig geronnen ist.

Es ist dieselbe Abnormität welche bei der Einspritzung von Fibrinferment, von Leucocyten, und auch von WOOLDRIDGE's Gewebsfibrinogen, so oft beobachtet ist, und WOOLDRIDGE von „einer positiven und einer negativen Phase" bei der Gerinnung zu sprechen veranlasst hat.

Bei den zahlreichen Untersuchungen von A. SCHMIDT und seinen Schülern ist wiederholt ans Licht gekommen, dass grosse Mengen Fibrinferment in das Blut gebracht werden können, es sei denn durch Einspritzung des Ferments als solches, es sei durch Injection von die Blutkörperchen zerstörenden, und dadurch die Entstehung des Ferments veranlassenden Stoffen, ohne dass intravasculäre Gerinnung davon die Folge sei. „Der Organismus", sagt E. VON SAMSON HIMMELSTJERNA [1]) kann kolossale Fermentquantitäten im Kreislauf unwirksam machen, wenn sie nur nicht zu plötzlich auftreten; darum sind Gerinnselbildungen im Gefässsystem nach Jaucheinjectionen, trotz der grossen Anzahl von Versuchen, nur *ein* Mal beobachtet worden".

Es ist nun so ziemlich einerlei ob das Ferment als ganzes in das Blut gebracht wird, oder das Nucleoalbumin — gleichviel ob es von den Zellen des Blutes oder von den Zellen der Thymus oder des Testikels herkommt — welches, sobald es in das Blut kommt, Kalksalze, mit welchen es Ferment bilden kann, vorfindet. Ebenso wie das Fibrinferment, ruft das Nucleoalbumin, wenn es nur schnell genug, und in genügender Menge in das Blut gebracht wird, Gerinnung hervor. Wenn aber zu wenig eingespritzt wird, oder wenn das Nucleoalbumin, in Folge zu langsamer Bereitung, oder zu langen Aufbewahrens, schon in seiner Wirksamkeit geschädigt ist, auch wenn es noch im Stande ist, ausserhalb des Korpers eine kalkhaltige Fibrinogenlösung gerinnen zu machen, so hinterbleibt die Thrombose, dann ist aber auch die Gerinnung des aufgefangenen Blutes verzögert.

Dass dies nicht nur für das Nucleoalbumin aus Blut Geltung hat, sondern auch für das WOOLDRIDGE'sche Gewebsfibrinogen, kann aus folgendem Versuch ersehen werden.

Nucleoalbumin, nach dem Vorschrift WOOLDRIDGE's aus Kalbsthymus bereitet, und in 0 6 proc. Na Cl mit ein wenig $Na_2 CO_3$ gelöst, wird einem Kaninchen in die Vena jugularis injicirt. Das Thier zeigt Erstickungskrämpfe und stirbt. Sogleich nach dem Tod werden die grossen Venae und das rechte Herz mit geronnenem Blut gefüllt gefunden.

Unmittelbar darauf wird der Rest der Lösung, etwa die Hälfte der beim ersten Kaninchen injicirten Quantität, mit 2 Volum 0.6 proc. Na Cl verdünnt, einem zweiten Kaninchen im Verlauf von 5 Minuten, in die Vena jugularis eingegossen. Das Thier zeigt keine

---

[1]) Dissert. Dorpat, 1882, S. 79.

Spur van Krämpfen. 2 Minuten nach der Beendigung der Injection wird Blut aus der Carotis aufgefangen. Erst nach 17 Minuten zeigen sich an der Wand des Glases die ersten Spuren von Gerinnung. Nach 1½ Stunde ist die Gerinnung noch so wenig fortgeschritten dass das Blut ohne Schwierigkeit in einem Strahl in ein anderes Glas übergegossen werden kann. Am folgenden Morgen ist das Blut geronnen, das Gerinnsel ist aber sehr weich, und das, mittelst Auspressen, daraus erhaltene Serum, gerinnt nach Verdünnung mit Wasser, in 1½ Stunden aufs Neue.

Das Blut, das, sich selbst überlassen, so langsam und unvollständig gerinnt, wird nach Verdünnung mit Wasser, und nach dem Einleiten von Kohlensäure in kurzer Zeit vollkommen fest.

Auch die Wirkung von in den Kreislauf injicirten Leucocyten ist von dem Reichthum der Zellen an Nucleoalbumin abhängig. Nach Wooldridge besitzen durch Auswaschen mit indifferenter Kochsalzlösung gut gereinigte Leucocyten zwar das Vermögen ausserhalb des Körpers Peptonplasma zur Gerinnung zu bringen, können sie aber keine intravasculäre Gerinnung hervorrufen. Krüger [1]) dagegen fand dass Leucocyten aus Lymphdrüsen, auch nachdem sie mit 0.6 procentiger Kochsalzlösung gewaschen sind, bei Katzen in den Kreislauf gebracht, das Blut in den Gefässen des lebenden Thieres gerinnen machen, und ebenso durch Auswaschen mit eiskaltem Wasser gereinigte Leucocyten aus Pferdeblut. Wooldridge ist der Meinung dass von Krüger die Zellen nicht genügend ausgewaschen wurden. „Da noch Niemand in Dorpat", so spricht er sich aus, „isolirte Leucocyten aus Lymphdrüsen injicirt hat, so ist der Beweis nicht erbracht, dass sie stets intravasculäre Gerinnung hervorrufen" [2]).

Ich habe mich davon überzeugen können dass Leucocyten aus der Thymusdrüse, nach wiederholtem Auswaschen mit reichlichen Mengen 0.6 procentiger Kochsalzlösung, selbst beim Kaninchen, in die Vena jugularis injicirt werden können, ohne intravasculäre Gerinnung zu verursachen, wiewohl dieselben ausserhalb des Körpers, mit dem nach der Injection gelassenen und sehr langsam gerinnenden Blut gemischt, dessen Gerinnung in starkem Maasse befördern. Darin kann ich aber keinen Grund finden, mit Wooldridge anzunehmen dass „in keinem Stadium des Gerinnungsprocesses die Be-

---

[1]) Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXIV, S. 189.

[2]) Die Gerinnung des Blutes, S. 18.

theiligung der weissen Blutkörperchen nöthig ist"[1]). Wie oben (S. 35) schon bemerkt, wird den todten Leucocyten das Nucleoalbumin von Kochsalz nicht leicht ganz entzogen, und noch weniger leicht von eiskaltem Wasser. Wenn also, wie in den KRÜGER'schen Versuchen, die Lymphdrüsenzellen mit wenig Kochsalzlösung, oder die Zellen des Plasma's mit viel eiskaltem Wasser gewaschen werden, so bleiben sie Nucleoalbuminreich genug, dass sie im strömenden Blut soviel Fibrinferment bilden können, als für das Zustandekommen der intravasculären Gerinnung erforderlich ist. Nach wiederholtem Auswaschen mit Kochsalz aber verhalten sie sich wie eine schwache Nucleoalbuminlösung: ausserhalb des Körpers können sie eine schwach alkalische, kalkhaltige Fibrinogenlösung allerdings noch zur Gerinnung bringen, im kreisenden Blut dagegen rufen sie keine Gerinnung mehr hervor, sondern verringern sie im Gegentheil die Fähigkeit der Blutes Fibrin auszuscheiden.

Der Organismus verfügt offenbar über Mittel, das Fibrinogen gegen die Wirkung des Nucleoalbumins, welches, auch im normalen Leben, angesichts der Vergänglichkeit der Formelementen des Blutes, wohl öfters im Blut vorhanden sein muss, zu schützen. Nur wenn in kurzer Frist die Körperchen in grosser Zahl zerstört werden, bei Hautverbrennungen, bei Injection von die Blutkörperchen zerstörenden Stoffen, zeigen sich die Kräfte des Organismus nicht ausreichend, und bilden sich, bald in grösserem, bald in kleinerem Maasstab, Fibrinausscheidungen in den Gefässen[2]).

Wenn aber das Fibrinferment, oder das nicht mit Kalk verbundene Nucleoalbumin durch den lebenden Organismus verhindert wird intravasculäre Gerinnung zu verursachen, so wird zu gleicher zeit die Fähigkeit des Blutes, ausserhalb des Körpers zu gerinnen, verringert oder ganz aufgehoben.

---

[1]) Ibid. S. 23.

[2]) Neuerdings ist von HEINZ gefunden (Virchow's Archiv, Bd. CXXVI, S. 495) dass nach der Injection von Natrium arsenicosum, auch wenn eine Blutegelextractinjection vorausgeschickt ist, Fibrin in den Blutgefässen gebildet wird, während, falls eine Peptoninjection vorangegangen war, zwar Blutplättchenthromben in den stark erweiterten Darmcapillaren gefunden wurden, aber kein Fibrin.

Die Erklärung des Unterschiedes scheint mir hierin gelegen zu sein, dass in dem ersten Fall die Bildung von Fibrinferment möglich wird, sobald die conservirende Wirkung des Blutegelextractes von der zerstörenden Wirkung des Arseniksalzes überwunden wird, während nach der Peptoninjection, das vom Arsenik aus den Zellen frei gemachte Nucleoalbumin keinen Kalk in genügender Menge zur Verfügung findet für die Bildung von soviel Fibrinferment als für das Veranlassen einer intravasculären Gerinnung erfordert wird.

Bonne [1]) ist geneigt anzunehmen, das Fibrinferment werde im kreisenden Blut unwirksam gemacht von der Kohlensäure, und dann von den Nieren ausgeschieden. Damit kan aber die Sache nicht als erklärt betrachtet werden. Denn, wenn auch schon zugegeben werden muss, dass Kohlensäure die Gerinnung des normalen Blutes verzögert, dennoch ist es nicht zu bezweifeln dass auch wirklich venöses Blut im lebenden Körper gerinnen kann. Und bei der Injection von Nucleoalbumin in die Gefässe, wird die Gerinnung des Blutes in den Adern geradezu durch die Kohlensäure gefördert. — In Bezug auf die Ausscheidung des Fibrinferments durch die Nieren, theilt Bonne mit, dass er nur in einem Fall, aus dem Harn einer gesunden Wöchnerin „mit leichtem Resorptionsfieber", eine Alkoholfällung erhielt, welche mit proplastischen Flüssigkeiten nach 24 Stunden eine, die chemische Eigenschafte des Fibrins darbietende Gerinnung gab, indem übrigens alle seine diesbezüglichen Untersuchungen ein negatives Resultat lieferten.

Sellbst wenn man auch der Wirkung der Kohlensäure das Ausbleiben der intravasculären Gerinnung zuschreiben dürfte, so wäre damit die Verzögerung oder das Ausbleiben der Gerinnung des Blutes ausserhalb der Gefässe noch nicht im Geringsten aufgeklärt.

Wie ich glaube, ist auf einem anderen Weg die Erklärung beider Erscheinungen zu gleicher Zeit zu finden.

Wiederholte Male habe ich schon daraufhingewiesen, dass das aus dem Blutplasma ausgeschiedene Nucleoalbumin ein leicht veränderlicher Stoff ist. In Kochsalz gelöst aufbewahrt, verliert es, auch bei niedriger Temperatur, allmählich die Fähigkeit Fibrin zu bilden, indem die anfangs klare, oder höchstens opalescirende Lösung sich trübt, ohne dass eine nennenswerthe Bakterienentwickelung darin nachzuweisen wäre. Wird das Nucleoalbumin unter Wasser, in ungelöstem Zustand aufbewahrt, so verliert es allmählich seine Löslichkeit in neutraler Salzlösung. Die Substanz ist dann allerdings noch leicht löslich in verdünntem Alkali, aus der alkalischen Lösung mittelst Essigsäure gefällt, ist sie aber nicht löslich mehr im Ueberschuss dieser Säure. Die Umwandlung findet schneller Statt bei sauerer Reaction der Flüssigkeit, am schnellsten aber bei alkalischer Reaction. Wird das Nucleoalbumin in schwacher Kalilauge (2 pCt.) gelöst, und dann erhitzt, so ist es bald ganz zersetzt. Ob nun die Umwandlung bei saueren, neutralen oder alkalischen Reaction Statt gefunden hat, jedesmal ist in der Flüssigkeit Albumose nachzuweisen.

---

[1]) Ueber das Fibrinferment und seine Beziehungen zum Organismus, Würzburg, 1889

Wenn die mehr oder weniger trübe Flüssigkeit mit Essigsäure und Kochsalz gekocht und heiss filtrirt wird, so ist das Filtrat in der Kälte trübe, und wird beim Erhitzen wieder klar. Aus dem Nucleoalbumin wird also, neben Nuclein, auch ohne die Wirkung von Magensaft, Albumose als Spaltungsproduct erhalten.

Wie gesagt wird das Nucleoalbumin am schnellsten zersetzt durch Erwärmen mit Kalilauge. Es ist nicht nöthig dafür die Temperatur bis zur Kochhitze zu treiben. Wenn Nucleoalbumin — und dies hat in gleichem Maasse Geltung für das Nucleoalbumin aus dem Blut, für dasjenige aus Thymus und Testikel, und für das Casein — in 2-procentiger Kalilauge gelöst, und dann bei 60° C. aufbewahrt wird, so findet man nach 24 Stunden in der anfangs klaren Lösung einen geringen, körnigen Niederschlag. Nur bei dem Casein war der Niederschlag gross genug um eine etwas nähere Untersuchung zu ermöglichen. Derselbe bestand hier aus Krystallen: Nadelbüschel, Kügelchen und Hantelformen, welche sich in Salzsäure unter Entwickelung von Gasbläschen lösten. In der Lösung der Krystalle konnte mit Ammoniumoxalat Kalk, mit Molybdänsäure, sowie mit Magnesiamixtur, Phosphorsäure nachgewiesen werden. Der Niederschlag aus den Lösungen des von Blut oder von Geweben herstammenden Nucleoalbumins war nicht, oder doch nicht deutlich krystallinisch. Zur chemischen Untersuchung war die Menge nicht ausreichend. Die von dem Niederschlag abfiltrirte Flüssigkeit wird von Essigsäure, je nachdem der Nucleoalbumingehalt der Lösung anfangs gross oder klein war, getrübt oder nicht getrübt. Ist Trübung da, so wird sie von einem Ueberschuss von Essigsäure nicht gelöst. Die mit Essigsäure gekochte, wenn nöthig filtrirte Flüssigkeit giebt gewöhnlich nach Zusatz concentrirter Kochsalzlösung in der Kälte einen Niederschlag, welcher beim Erhitzen verschwindet, und bei Abkühlung zurückkehrt. Bleibt die Flüssigkeit, auch in dei Kälte, mit Kochsalz klar, so kann daraus doch jedenfalls durch Sättigen mit Ammoniumsulfat ein Niederschlag von Albumose erhalten werden. Während das Nucleoalbumin, sogleich nach dem Auflösen in Kalilauge, nach kurzer Erhitzung mit Essigsäure keine Spur einer Albumose-reaction mit Kochsalz und mit Ammoniumsulfat giebt, und auch die Biuretreaction entweder gar nicht, oder in äusserst schwachem Grade zeigt, lässt sich an der Flüssigkeit, nachdem sie 24 Stunden bei 60° C. digerirt is, auch diese Reaction sehr deutlich beobachten.

Nachdem es sich herausgestellt hatte, dass das Nucleoalbumin, zumal bei alkalischer Reaction, so leicht zersetzt wird, und dabei als Spaltungsproduct Albumose liefert, drängte sich die Vermuthung bei mir auf, dieselbe Spaltung trete vielleicht auch im lebenden Blute

auf, und die dabei freigewordene Albumose hindere die Gerinnung des Blutes ausserhalb des Körpers. Für diese Vermuthung sprach schon die Beobachtung, dass das nach Nucleoalbumininjection langsam gerinnende Blut des Kaninchen, viel schneller gerann nach Wasserzusatz, nach Hindurchleiten von Kohlensäure, und nach Zusatz von Nucleoalbumin.

Zur Prüfung der Richtigkeit dieser Hypothese war es erwünscht Hunde statt Kaninchen als Versuchsthiere zu gebrauchen. Erstens sind Hunde ja viel empfindlicher als Kaninchen für die Pepton (Albumose)-vergiftung, und zweitens hat die übereinstimmende Erfahrung verschiedener Forscher gelehrt, dass eben Hunde sehr beträchtliche Mengen von Fibrinferment und von Nucleoalbumin (Gewebsfibrinogen) unwirksam zu machen im Stande sind. Ausserdem hat WRIGHT ein Mittel an die Hand gegeben zur Erhöhung der Fähigkeit des Hunde-organismus, intravasculärer Gerinnung, trotz der Injection grosser Nucleoalbuminmengen in das Gefässsystem, vorzubeugen. Von WOOLDRIDGE war nämlich gefunden dass bei Hunden, nach der Injection von Gewebsfibrinogen, öfters nur die Vena Portae thrombosirt wird. WRIGHT lieferte die Erklärung dieser Erscheinung [1]). Er fand dass die Gerinnung innerhalb der Gefässe unter dem Einfluss des Nucleoalbumins von einem hohen Kohlensäuregehalt des Blutes befördert wird. In allerhand Gefässen konnte er, nach der Injection, Thrombose hervorrufen, wenn er es nur so einrichtete dass darin das Blut stark venös war. Beim normalen Hund ist das langsam aus den Baucheingeweiden anströmende Blut der Vena Portae stets stark venös; daher wird hier an erster Stelle Thrombose gefunden.

Man dürfte also erwarten, dass es möglich sein würde, die intravasculäre Gerinnung ganz hintanzuhalten, indem man das Blut, vor und während der Nucleoalbumininjection, mittelst kraftiger künstlicher Athmung, möglichst arm an Kohlensäure machte.

Thatsächlich war dies der Fall. Und jetzt stellte sich zugleich heraus, dass Nucleoalbumininjection bei Hunden alle Symptome der Peptonvergiftung hervorrufen kann.

Kurze Zeit nach dem Anfang der Injection wird der Hund sehr unruhig, um bald darauf ganz ruhig zu werden, allerdings ohne je in völliger Narcose zu verfallen. Der Blutdruck sinkt tief. Man kann, beim Registriren des Blutdrucks, Curven bekommen, welche den nach Peptoninjection bei Hunden gewonnenen Curven des Blutdruck-

[1]) Journ. of Physiol., Vol. XII, p. 184.

verlaufs vollkommen ähnlich sind. Das aus der Carotis aufgefangene Blut gerinnt spontan nicht. Das Blut, und das mittelst Centrifugiren daraus erhaltene Plasma gerinnen nach Verdünnung mit Wasser, nach Hindurchleiten von Kohlensäure[1]) und nach Zusatz von Nucleoalbumin. Der einzige Unterschied mit Peptonblut ist, dass nicht nur sehr kräftige Nucleoalbumin- und Fibrinfermentlösungen Gerinnung hervorrufen können, sondern, bisweilen wenigstens, auch eine nach SCHMIDT's Methode bereitete Fermentlösung. Dieser Unterscheid ist aber, wie oben besprochen, nur von quantitativer Natur. Auch das Peptonplasma gerinnt nach Fermentzusatz, wenn das Ferment nur kräftig wirksam ist.

Ausserdem konnte im Blutplasma Albumose nachgewiesen werden, indem, nach der von DEVOTO[2]) angegebenen Methode, durch Erhitzen im strömenden Wasserdampf, mit überschüssigem Ammoniumsulfat, alle Eiweisstoffe gefällt wurden, und dann der Niederschlag mit heissem Wasser ausgezogen wurde. Etwa vorhandene Albumose löst sich dann im Wasser, während die übrigen Eiweissstoffe durch das Erhitzen ganz unlöslich geworden sind.

Ich theile hier einige Versuche über die Wirkung des Nucleoalbumins aus Gewebe, bei Hunden, mit. In allen Versuchen habe ich mich, unmittelbar bevor die Injection beim Hund Statt fand, davon überzeugt, dass die Lösung, einem Kaninchem in die Vena jugularis eingespritzt, ausgedehnte Gerinnung im Gefässsystem hervorrief.

I. Bei einem 8.2 Kg. schweren Hund wird die Vena jugularis mit einer, eine nach WOOLDRIDGE bereitete Gewebsfibrinogenlösung aus Kalbsthymus, in 0.7-proc. Na Cl und ein wenig Soda gelöst, enthaltenden Bürette verbunden. Die Carotis ist mit einem Manometer in Verbindung gebracht. Tracheotomie, künstliche Athmung.

Der Blutdruck ist vor und nach dem Anfang der künstlichen Athmung ± 160 Mm.

Von 2 U. 22 bis 2 U. 23 15 C C der Lösung eingeflösst. Das Thier wird sehr unruhig. Der Blutdruck sinkt bis auf ± 90 Mm.

Von 2 U. 24 bis 2 U. 28 70 C C injicirt. Das Thier wird ganz ruhig. Der Blutdruck schwankt zwischen ± 90 Mm. und ± 110 Mm.

Künstliche Athmung sistirt. Erst nach 2 Minuten fängt der Hund an active Athmungsbewegungen zu machen. Die künstliche Athmung wieder fortgesetzt.

---

[1]) Auch WRIGHT fand, gegen WOOLDRIDGE, dass, nach der Gewebsfibrinogeninjection, das Blut, für gewöhnlich wenigstens, durch CO_2 zur Gerinnung gebracht werden kann. (Journ. of Physiol., Vol. XII, p. 188).

[2]) Zeitschr. f. Physiol. Chemie, Bd. XV, S. 465.

Von 2 U. 31 bis 2 U. 34, 35 CC. injicirt. Der Druck sinkt erst bis auf ± 70 Mm., steigt dann allmählich wieder auf ± 125 Mm.

Darauf werden 100 CC. Blut aus der Carotis gelassen. Das Blut bleibt flüssig und wird centrifugirt. Das Plasma gerinnt vollständig nach Verdünnen mit Wasser und nach Hindurchleiten von CO_2, ebenso nach Zusatz von SCHMIDT'schem Ferment, und von, durch Behandlung des Nucleoalbumins aus der Thymus mit Kalkwasser, Kohlensäure und atmosphärischer Luft, erhaltenem Ferment.

Ein Theil des Plasma's wird mit Ammoniumsulfat im Wasserbad gesättigt, dann 40 Minuten in strömendem Wasserdampf erhitzt, und nach Abkühlung filtrirt. Der Niederschlag wird auf dem Filter mit heissem Wasser ausgewaschen. Das Waschwasser ist volkommen klar, giebt deutliche Xanthoproteinreaction, und wird durch Sättigung mit Ammoniumsulfat getrübt. Die Trübung verschwindet bei Verdünnen mit Wasser, und kehrt zurück als aufs Neue Ammoniumsulfat hinzugesetzt wird.

II. Nucleoalbumin, nach WOOLDRIDGE aus Testikeln des Schafbocks bereitet, in 0.6 proc. Na Cl und ein wenig Soda gelöst, in die Vena jugularis eines 5.4 KG. schweren Hundes injicirt. Die Carotis mit einem Manometer verbunden. Künstliche Athmung.

Vor der Injection schwankt der Blutdruck zwischen 150 und 180 Mm.

In 4 Minuten werden 100 CC. der Lösung eingeflösst. Einzelne Augenblicke nach dem Anfang der Injection beginnt der Blutdruck zu sinken, indem der Hund unruhig wird. Bald darauf wird und bleibt das Thier ganz ruhig. Der Druck sinkt bis auf ± 70 Mm.; und steigt dann wieder langsam, bis ± 110 Mm. an. Beim Sistiren der künstlichen Athmung zeigt sich der Hund apnoisch. 4 Minuten nach der Beëndigung der Injection wird Blut, tropfenweise ausfliessend, aus der Carotis aufgefangen. Das Blut gerinnt, sich selbst überlassen, nicht, wohl aber nach Verdünnen mit Wasser, und Einleiten von CO_2.

III. Nucleoalbumin aus Schafbockstestikeln, in 0.6 proc. Na Cl und een wenig $Na_2 CO_3$ gelöst, einem 6 KG. schweren Hund injicirt. Versuchsanordnung wie oben. Blutdruck vor der Injection ± 150 Mm. Nachdem in wenigen Minuten 100 CC. injicirt sind, ist du Blutdruck bis auf ± 40 Mm. gefallen.

In den ersten Augenblicken nach der Injection is der Hund sehr unruhig. Bald danach wird das Thier still, kommt aber nicht in Apnoe.

Dass aus der Carotis aufgefangene Blut gerinnt, sich selbst überlassen, nicht, wohl aber nach Hindurchleiten von CO_2, nach Verdün-

nung mit Wasser, nach Zusatz von aus Nucleoalbumin vom Oxalatplasma des Schafes bereitetem Ferment, und auch, wiewohl langsam und unvollständig, nach Zusatz von SCHMIDT'schem Ferment.

IV. Nucleoalbumin aus Kalbsthymus, in 0.6-proc. Na Cl und ein wenig Soda gelöst, einem 10.5 KG. schweren Hund injicirt. Versuchsanordnung wie oben. Der Blutdruck ist vor der Einspritzung ± 150 Mm. Trotz der künstlichen Athmung, macht der Hund selbst, vor der Injection, sehr frequente Athembewegungen. Einige Augenblicke nach dem Beginn der Injection werden die activen Bewegungen des Brustkorbes, wiewohl kräftig und regelmässig Luft eingeblasen wird, sehr stark, während der Blutdruck bis auf ± 80 Mm. absinkt. Nachdem in der Zeit von einzelnen Minuten, 100 CC. der Lösung in anhaltendem Strom eingeflossen sind, sinkt der Blutdruck schnell bis auf Null, und hebt sich nicht wieder, trotz fortgesetzter künstlicher Athmung. Bauch- und Brusthöhle werden geöffnet. Alle Venen sind stark gefüllt. Ueberall, auch in der stark gedehnten Vena Portae, ist das Blut flüssig. Aus dem rechten Herz wird sehr dunkles Blut aufgefangen, in welchem sich nach 10 Minuten eine Spur von Gerinnung zeigt. Die Gerinnung schreitet aber nicht fort, nachdem, durch Hindurchleiten eines Luftstromes, der Ueberschuss von CO_2 aus dem Blut verjagt ist.

V. Ein Theil des, im vorigen Versuch gebrauchten Nucleoalbumin, noch zweimal, in der Centrifuge, mit Wasser gewaschen, in 0.6-proc. Na Cl und ein wenig Soda gelöst, einem 5.4 KG. schweren Hund injicirt. Versuchsanordnung wie oben.

Vor der Injection wird 45 CC. Blut aus der Carotis in 5 CC. 1-procentiger Kaliumoxalatlösung aufgefangen.

45 CC. der Lösung in 3 Minuten eingeflösst. Anfangs wird das Thier unruhig, später liegt es ganz still. Der Blutdruck sinkt von ± 160 Mm. bis auf ± 50 Mm.

Das nach der Injection aufgefangene Blut gerinnt spontan nicht, wohl aber nach Zusatz des für den Versuch gebrauchten Nucleoalbumins.

Dieses Blut wird centrifugirt, ebenso wie das vor der Injection in Kaliumoxalat aufgefangene Blut. Von jedem Plasma werden 10 CC. verdünnt mit je 15 CC. Wasser, und mit je 20 Grm. Ammoniumsulfat, erst im Wasserbad, und dann 45 Minuten lang in strömendem Wasserdampf erhitzt. Nach Abkühlung werden die Niederschläge abfiltrirt, und jeder zweimal mit je 20 CC. heissem Wasser auf dem Filter ausgewaschen. Das Waschwasser des Oxalatplasma's giebt keine Xanthoproteinreaction, und bleibt, bei Sättigung mit Ammoniumsulfat, völlig klar, während aus dem Niederschlag des nach der Injection aufgefangenen Blut ein Waschwasser erhalten wird,

das deutliche Xanthoproteinreaction giebt und durch Sättigung mit Ammoniumsulfat getrübt wird.

In keinem dieser Versuche wurde, in Folge der günstigen Wirkung der künstlichen Athmung, irgend ein Zeichen intravasculärer Gerinnung beobachtet. Die Hunde der Versuche I und II wurden am Leben erhalten, und waren nach einigen Tagen völlig gesund — zum Beweis dass sich auch in der Vena Portae kein Thrombus gebildet hatte.

Obgleich auch Casein, wie oben erwähnt, mit Hülfe von Kalk, in Fibrinogenlösungen, ausserhalb des Körpers, Gerinnung veranlassen kann, habe ich doch weder bei Hunden, noch bei Kaninchen durch Einbringen von Casein in das Gefässsystem, intravasculäre Gerinnung hervorrufen können. Wohl aber hat die Injection dieser Substanz, bei Kaninchen sowie Hunden, eine Verzögerung der Gerinnung des aus den Gefässen gelassenen Blutes zur Folge. Einmal selbst habe ich beim Hund, nach Injection von nach der HAMMARSTEN'schen Methode bereitetem Casein, das Blut ganz flüssig bleiben sehen. Das mittelst Centrifugiren dieses Blutes erhaltene Plasma gerann nach dem Hindurchleiten von Kohlensäure völlig, und auch, wenngleich langsam und unvollständig, nach Verdünnen mit Wasser. Zusatz von Chlorcalcium liess das verdünnte Plasma bald fest gerinnen.

Die Ergebnisse der Injectionen von Nucleoalbumin aus Geweben haben, wie ich glaube, die Vermuthung bestätigt, dass Nucleoalbumin und Fibrinferment, die Nucleoalbumin-Kalkverbindung, im kreisenden Blut zerlegt werden können, und dass dabei Albumose frei wird. Hunde, denen das Nucleoalbumin injicirt wird, während durch künstliche Lungenventilation das Blut so arm an Kohlensäure gemacht wird, dass jede Thrombose ausbleibt, zeigen alle Symptome von Peptonvergiftung, und das nach der Injection gelassene Blut besitzt alle Eigenschafte von Peptonblut, während darin auch, nach der DEVOTO'schen Methode, Albumose, eine Substanz welche vor der Injection darin nicht zu finden ist, (Versuch V) nachgewiesen werden kann [1]).

Eine sehr willkommene Bestätigung dieses Ergebnisses fand ich

---

[1]) Zur Controlle habe ich mich davon überzeugt, dass auch nach Peptoninjection beim Hund im bald nach der Injection aufgefangenen Blut sich nach der DEVOTO'schen Methode Albumose nachweisen lässt, während im vor der Peptoninjection in Kaliumoxalat aufgefangenen Blut nicht eine Spur dieser Substanz zu finden war.

in einer neuerdings erschienenen Arbeit WRIGHT's [1]), die ich erst kennen lernte nachdem ich meine hierauf bezüglichen Versuche schon angestellt hatte. Auf einem etwas anderen Weg war WRIGHT, wie ich jetzt ersah, schon vor mir zu dem Schluss gekommen, dass Nucleoalbumin aus Thymus und Testikeln, für welches er den Namen Zellfibrinogen statt Gewebsfibrinogen vorzieht, bei Hunden im kreisenden Blut zerlegt wird, unter Abspaltung von Albumose, und dass nach der Einspritzung von völlig albumosefreiem Nucleoalbumin in das Blut, im Harn, mittelst der Biuretreaction, Albumose nachgewiesen werden kann. Auch bei Kaninchen fand WRIGHT, falls nicht soviel Nucleoalbumin injicirt war, dass das Blut in den Gefässen gerann, die sogenannte negative Phase. Ich kann hinzufügen dass unter diesen Umständen sich auch bei Kaninchen ein beträchtliches Sinken des Blutdruckes in der Carotis beobachten lässt.

Wenngleich nun, streng genommen, die Erklärung der „negativen Phase" nur geliefert ist in Bezug auf das Nucleoalbumin aus Thymus und Testikeln, so scheint es mir doch nicht allzu gewagt, diese Erklärung auf das Fibrinferment im Allgemeinen anzuwenden.

Gleichwohl ob man von dem Nucleoalbumin aus den Blutkörperchen, von dem Nucleoalbumin aus den Zellen von Thymus oder Testikel, oder von dem Nucleoalbumin aus der Milch, dem Casein, ausgeht, immer erhält man daraus, durch Behandlung mit $Ca\ Cl_2$, $Ca\ SO_4$, oder $Ca\ H_2\ O_2$, eine Substanz welche die Eigenschaft des Fibrinferments, in einer neutralen oder schwach alkalischen Lösung reinen Fibrinogens die Ausscheidung einer kalkhaltigen Eiweisssubstanz, des Fibrins, zu veranlassen, besitzt, während aus dem in irgend welcher Weise aus Blutserum bereiteten Fibrinferment, immer, mittelst Magensaft, Nuclein erhalten werden kann, und dieses Ferment auch jene, den Nucleoalbuminen eigenthümliche Eigenschaft zeigt, dass es aus der salzarmen Lösung durch Ansäuern mit Essigsäure gefällt, und von einem Ueberschuss von Essigsäure wieder gelöst wird.

Die genannten Nucleoalbumine von dreierlei Abstammung, werden alle leicht, zumal bei alkalischer Reaction, zerlegt, und liefern dann Albumose als Spaltungsproduct.

Die Verzögerung der Gerinnung des Blutes ausserhalb des Körpers

---

[1]) Injection of WOOLDRIDGE's Tissue-Fibrinogen. Proc. of the Royal Irish Acad. 3rd Ser., Vol. II., No. 2, 1892.

wird ebensogut beobachtet nach der Injection des von den Blutkörperchen herstammenden Nucleoalbumins, wie nach der Injection von Nucleoalbumin aus Geweben, und sie fehlt nicht, wenn sie auch weniger hervortretend ist, nach der Injection von Casein.

Das Blutkörperchennucleoalbumin stimmt weiter darin mit dem Gewebsnucleoalbumin völlig überein, dass Ersteres, ebensogut wie Letzteres, nicht nur ausserhalb des Körpers, mit Hülfe von Kalksalzen, reines Fibrinogen zur Gerinnung bringen, sondern auch, wenn es nur in genügender Concentration in das Blut gebracht wird, wenigstens bei Kaninchen, intravasculäre Gerinnung hervorrufen kann, während Krüger auch bei Katzen Gerinnung des Blutes in den lebenden Gefässen nach Injection von mit eiskaltem Wasser gewaschenen Leucocyten aus Pferdeblutplasma beobachtete.

Bei so viel Uebereinstimmung darf man, wie ich glaube, dafürhalten, dass auch das beim Zugrundegehen der Blutkörperchen frei werdende Nucleoalbumin innerhalb der Blutgefässe des lebenden Thieres, bei der einen Thierart in grösserem, bei der anderen in kleinerem Maassstab, zerlegt werden kann, und dass dabei Albumose frei wird; dass also in dieser Weise der Organismus gegen die Gefahr von Fibrinausscheidung in den Blutgefässen, jedesmal wenn im Blute schwebende Zellen durch irgend eine Ursache zerstört werden, sich zu schützen befähigt ist, indem dabei als Spaltungsproducte Stoffe frei werden, von welchen wenigstens eine, die Albumose, in geringer Menge sicher nicht schädlich ist, und nöthigenfalls von den Nieren ausgeschieden werden kann.

Umsomehr darf diese Auffassung plausibel erscheinen, als es bekannt ist, dass bei Thieren nach dem Einführen von die Blutkörperchen zerstörenden Stoffen (Glycerin, destillirtem Wasser, in Wasser gelöstem Haemoglobin) [1]) in das Blut, und beim Menschen bei allerhand mit Zerstörung von Blutkörperchen einhergehenden Krankheiten, Albumose im Harn gefunden werden kann, und bei massenhafter Zerstörung von Blutkörperchen, bei Menschen und Thieren, Thrombose der verschiedensten Blutgefässen beobachtet worden ist.

Mit welchen Mitteln der Organismus die Zerlegung des Nucleoalbumins zu Stande bringt, ist eine Frage welche mir für den Augenblick nicht zu genauerer Untersuchung reif scheint. Es liegt auf der Hand, hier in erster Linie an die Endothelzellen der Capil-

---

[1]) N. M. Josephus Jitta, Over experim. Haemoglobinurie en Haemoglobinaemie, Dissert. Amsterdam, 1885.

largefässe zu denken, deren Bedeutung als lebende, active Zellen in der letzten Zeit durch HEIDENHAIN's Untersuchungen, soviel mehr wie früher in den Vordergrund gekommen ist. Wie es scheint, weisen auch die Untersuchungen LISTER's darauf hin, der noch vor kurzer Zeit die Aufmerksamkeit darauf lenkte, dass in den kleinen Gefässen das Blut nicht nur lange Zeit nach dem Tode flüssig bleibt, sondern selbst die Fähigkeit zu gerinnen ganz verlieren kann [1].

Auf Grund des Mitgetheilten glaube ich meine Auffassung des Gerinnungsprocesses folgenderweise zusammenfassen zu können:

Im normalen, kreisenden Blut kommt in Lösung vor das Fibrinogen, eine Globulinsubstanz, welche bei etwa 56° C. gerinnt, derselben Temperatur bei welcher auch klares Plasma sich trübt, wie früher von HEWSON und später von FRÉDERICQ, für Plasma nachgewiesen ist, aus welchem sich, in der langsam absterbenden Vena jugularis des Pferdes, die Körperchen abgesetzt hatten, und wie mir auch aus der Untersuchung von in verschiedener Art vor Gerinnung geschütztem Blut hervorgegangen ist.

Aus dem Fibrinogen entsteht ein kalkhaltiger Eiweissstoff, das Fibrin, welcher sich, bei neutraler oder schwach alkalischer Reaction der Flüssigkeit, im der Form einer Gallerte ausscheidet, sobald eine Nucleoalbumin-Kalkverbindung, welche an das Fibrinogen Kalk abgiebt, in der Lösung vorhanden ist. Es ist, wie HAMMARSTEN näher ausgeführt hat, nicht sicher ob dabei das Fibrinogen in ein unlösliches und ein lösliches Spaltungsproduct zerlegt wird, oder aber ob es theilweise, mit Kalk verbunden, als Fibrin sich ausscheidet, und zu einem anderen, kleineren Theil gelöst bleibt.

Unter gewöhnlichen Verhältnissen entsteht die Nucleoalbumin-Kalkverbindung, das Fibrinferment, welche die Gerinnung des Blutes veranlasst, in Folge des Absterbens der im Blut schwebenden Körperchen, welche dem Plasma Nucleoalbumin abgeben, das sich jetzt mit dem im Plasma sich vorfindenden Kalk (vielleicht richtiger Calcium) verbinden kann.

Nucleoalbumine anderer Herkunft, von den Zellen der Glandula Thymus, von den Zellen des Hoden, von den Zellen der Milchdrüse (Casein) sind aber auch im Stande, sich mit Kalk zu verbinden und dann als Fibrinferment zu fungiren.

---

[1]) The Lancet, May 16, 1891, p. 1081.

Das Ferment kann sich, nachdem es an das Fibrinogen zur Fibrin ildung Kalk abgegeben hat, wiederherstellen wenn in der Lösung Kalksalze vorhanden sind denen das Nucleoalbumin Kalk entziehen kann. Diese Regeneration ist aber, weil das gelöste Nucleoalbumin leicht zersetzt wird, beschränkt.

Das Ferment wird unwirksam gemacht durch Erhitzen auf die Temperatur bei welcher das Nucleoalbumin coagulirt wird. Diese Temperatur liegt, für das Nucleoalbumin der Blutkörperchen, bei etwa 65° C., sie wird aber beinflusst durch den Dauer der Erhitzung, und durch das Vorhandensein von Beimischungen, insbesondere von Salzen. Wie es scheint, liegt die Gerinnungstemperatur des Gewebsnucleoalbumins und des Caseins höher.

Ausserhalb des Thierkörpers werden die verscheidene Nucleoalbumine leicht zersetzt, sehr leicht bei Anwesenheit von freiem Alkali und bei einer Temperatur von 60° C., wobei einerseits Nuclein oder dessen Spaltungsproducte, andererseits Albumose frei wird.

Der lebende Thierkörper besitzt, die eine Thierart in höherem, die andere in geringerem Grad, die Fähigkeit Nucleoalbumin und Fibrinferment, wenn diese Stoffe im Blut entstanden, oder von Aussen hinein gebracht sind, in derselben Weise zu zersetzen. Die dabei frei kommende Albumose kann von den Nieren ausgeschieden werden.

Ist aber die Nucleoalbumin- oder Fermentmenge im kreisenden Blut so gross, dass die Kräfte des Organismus zur Zerstörung des Nucleoalbumins nicht ausreichen, so kan dieser Stoff, wenn er noch nicht mit Kalk verbunden, Kalk aus dem Plasma aufnehmen, die Bildung von Fibrin aus dem Fibrinogen des Plasma's veranlassen und in Folge dessen Thrombose einer kleineren oder grösseren Zahl von Gefässen herbeiführen.







